



ANÁLISIS MOLECULAR Y ECOPOTENCIADORES EN EL ESTUDIO DE LAS NEOPLASIAS QUÍSTICAS PANCREÁTICAS

TESIS DOCTORAL

Raquel Herranz Pérez

Directores

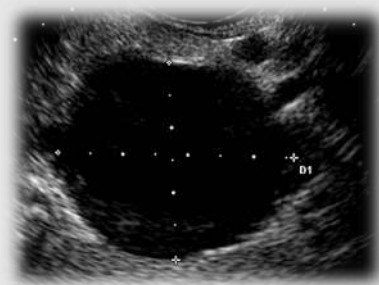
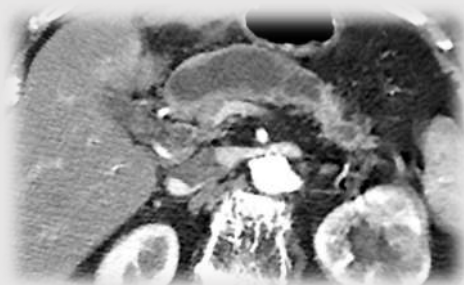
Dr. Cecilio Santander Vaquero

Dr. Felipe de la Morena López

Universidad Autónoma de Madrid

Facultad de Medicina, Departamento de Medicina

Madrid, 2021





ANÁLISIS MOLECULAR Y ECOPOTENCIADORES EN EL ESTUDIO DE LAS NEOPLASIAS QUÍSTICAS PANCREÁTICAS

TESIS DOCTORAL

Raquel Herranz Pérez

Directores

Dr. Cecilio Santander Vaquero

Dr. Felipe de la Morena López

Universidad Autónoma de Madrid

Facultad de Medicina, Departamento de Medicina

Madrid, 2021

DOCTORANDA

RAQUEL HERRANZ PÉREZ

Graduada en Medicina en la Universidad Complutense de Madrid

Médico Adjunto del Servicio de Aparato Digestivo

Hospital Universitario de La Princesa

Correo electrónico: raquel.herranzp@estudiante.uam.es

DIRECTORES

CECILIO SANTANDER VAQUERO

Profesor Asociado de Ciencias de la Salud (Departamento de Medicina,
Aparato Digestivo) de la Universidad Autónoma de Madrid

Jefe de Servicio de Aparato Digestivo

Hospital Universitario de La Princesa

Correo electrónico: cecilio.santander@salud.madrid.org

FELIPE DE LA MORENA LÓPEZ

Doctor en Medicina en la Universidad Autónoma de Madrid

Médico Adjunto del Servicio de Aparato Digestivo

Responsable de ecoendoscopia digestiva

Hospital Universitario de La Princesa

Correo electrónico: felipe.delamorena@salud.madrid.org

TÍTULO DE LA TESIS

Análisis molecular y ecopotenciadores en el estudio de las neoplasias quísticas pancreáticas

DOCTORANDA

Raquel Herranz Pérez

LUGAR DE PRESENTACIÓN

Facultad de Medicina. Universidad Autónoma de Madrid

LUGAR DE INVESTIGACIÓN

Hospital Universitario de La Princesa. Madrid

DIRECTORES

Dr. Cecilio Santander Vaquero

Dr. Felipe de la Morena López

TÍTULO AL QUE OPTA

Doctor en Medicina

*“Todos los triunfos nacen cuando
nos atrevemos a comenzar”
Eugene Fitch Ware*

AGRADECIMIENTOS

Son muchas las personas que han contribuido a que esta tesis doctoral se haya podido llevar a cabo y sin las cuales no hubiese sido posible. Espero que todas y cada una de ellas se sientan parte de este proyecto, porque así ha sido.

En primer lugar, me gustaría agradecer la realización de este trabajo a mis directores de tesis, Cecilio Santander Vaquero y Felipe de la Morena López. Gracias por su enseñanza, paciencia y motivación a lo largo de todo el proceso. Ha sido un verdadero privilegio poder contar con su guía y ayuda.

Gracias a todos los que han conformado el equipo de trabajo. A Pedro Majano y a Francisca Molina por aventurarse con nosotros en este estudio y ayudarnos a llevarlo a cabo. A Ruth Caminero, persona con la que he crecido en la ecoendoscopia y que ha mantenido la ilusión a lo largo de todo el proyecto. A Jose Antonio Jiménez Hefferman y a Carlos Humberto Gordillo, por su excelente disposición y colaboración. A Lorena Vega, que me ha ayudado a dar forma a este trabajo. Y por supuesto, a Jennifer Fernández-Pacheco, por su paciencia y ayuda durante estos meses.

Gracias a todos mis compañeros del Servicio de Aparato Digestivo del Hospital Universitario de la Princesa. De una u otra manera han sido claves en mi vida profesional y personal, y han formado parte de este camino. Sin su apoyo y cariño no hubiese sido posible.

Gracias a mis amigos, a los que he robado tiempo por realizar este trabajo y que me han sabido escuchar y apoyar en todo momento.

Y por encima de todo y de forma muy especial a mi madre, a mi padre y a mi hermano. Gracias por animarme siempre a que cumpla mis sueños, por enseñarme a no rendirme, por haberme sabido dar respaldo en los momentos difíciles y por compartir todas y cada una de mis alegrías. Este trabajo especialmente va dedicado a vosotros.

ÍNDICE

RESUMEN	XI
ABREVIATURAS Y SÍMBOLOS.....	XVI
1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. EVIDENCIA PREVIA.....	5
2.1. ASPECTOS GENERALES SOBRE LA GLÁNDULA PANCREÁTICA	5
• HISTOLOGÍA	5
• ANATOMÍA	6
• ESTRUCTURAS DUCTALES	7
• VASCULARIZACIÓN	8
• DRENAJE LINFÁTICO	9
• INERVACIÓN.....	9
2.2. APROXIMACIÓN DIAGNÓSTICA A LA PATOLOGÍA PANCREÁTICA.....	9
• ECOGRAFÍA ABDOMINAL	10
• TOMOGRAFÍA COMPUTERIZADA ABDOMINAL	10
• RESONANCIA MAGNÉTICA ABDOMINAL.....	12
• TOMOGRAFÍA POR EMISIÓN DE POSITRONES (PET)	13
• ULTRASONOGRAFÍA ENDOSCÓPICA	14
2.2.1.PUNCIÓN-ASPIRACIÓN CON AGUJA FINA GUIADA POR ECOENDOSCOPIA (USE-PAAF)	23
- ANÁLISIS DEL LÍQUIDO.....	26
• VISCOSIDAD	26
• CITOLOGÍA	26
• BIOQUÍMICA Y MARCADORES TUMORALES	33
• ADN Y ANÁLISIS MOLECULAR.....	40
- COMPLICACIONES RELACIONADAS CON LA USE-PAAF.....	51
2.2.2.ECOENDOSCOPIA CON CONTRASTE (USE-CE) 54	
• ECOENDOSCOPIA INTRADUCTAL (IDUS)	61
• COLEDOCOSCOPIA/PANCREATOSCOPIA.....	62
• COLANGIOPANCREATOGRFÍA RETRÓGRADA ENDOSCÓPICA (CPRE)	63
2.3. CARACTERÍSTICAS DE LAS LESIONES QUÍSTICAS PANCREÁTICAS.....	64
• EPIDEMIOLOGÍA	64
• FISIOPATOLOGÍA	65

•	FACTORES DE RIESGO DE MALIGNIDAD	68
•	MÉTODOS DIAGNÓSTICOS.....	69
•	RELEVANCIA	70
•	ABORDAJE DIAGNÓSTICO. GUÍAS CLÍNICAS.....	71
•	IMPORTANCIA PRONÓSTICA.....	88
•	TRATAMIENTO	93
2.4.	CLASIFICACIÓN DE LOS QUISTES PANCREÁTICOS	97
2.5.	TIPOS DE QUISTES PANCREÁTICOS.....	99
•	QUISTES DE RETENCIÓN	99
•	QUISTES VERDADEROS	99
•	QUISTES LINFOEPITELIALES.....	99
•	PSEUDOQUISTES	99
•	NEOPLASIA QUÍSTICA SEROSA	101
•	NEOPLASIA QUÍSTICA MUCINOSA.....	103
•	NEOPLASIA MUCINOSA PAPILAR INTRADUCTAL	106
•	NEOPLASIA SÓLIDA PSEUDOPAPILAR	113
•	TUMOR NEUROENDOCRINO PANCREÁTICO CON DEGENERACIÓN QUÍSTICA 114	
3.	HIPÓTESIS Y OBJETIVOS.....	116
3.1.	HIPÓTESIS	116
3.2.	OBJETIVO PRINCIPAL	116
3.3.	OBJETIVOS SECUNDARIOS	116
4.	MATERIAL Y MÉTODOS.....	117
4.1.	POBLACIÓN	117
4.2.	DISEÑO DEL ESTUDIO	117
4.3.	PROTOCOLO.....	118
4.4.	REGISTRO DE LA INFORMACIÓN	128
4.5.	ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	129
5.	RESULTADOS.....	131
5.1.	CARACTERÍSTICAS DE LOS PACIENTES	131
5.2.	CARACTERÍSTICAS DE LAS LESIONES.....	132
5.3.	RESULTADO DEL ANÁLISIS DEL LÍQUIDO.....	134
•	BIOQUÍMICO	135
•	CITOLÓGICO	135
•	MOLECULAR.....	136

5.4.	DECISIÓN TERAPÉUTICA. INDICACIÓN DE TRATAMIENTO QUIRÚRGICO ...	138
5.5.	CLASIFICACIÓN DE LAS LESIONES EN MUCINOSAS Y NO MUCINOSAS.....	138
5.6.	RENTABILIDAD DIAGNÓSTICA DEL ANÁLISIS MOLECULAR PARA LA IDENTIFICACIÓN DE NEOPLASIAS QUÍSTICAS MUCINOSAS Y DE MALIGNIDAD	139
5.7.	SEGURIDAD DE LA USE-PAAF EN EL ESTUDIO DE LAS NEOPLASIAS QUÍSTICAS PANCREÁTICAS.....	142
5.8.	FACTORES EPIDEMIOLÓGICOS RELACIONADOS CON ESTIRPE MUCINOSA Y CON MALIGNIDAD.....	142
5.9.	UTILIDAD DE LOS CRITERIOS MORFOLÓGICOS POR USE PARA EL DIAGNÓSTICO DE NEOPLASIAS QUÍSTICAS PANCREÁTICAS Y LA DETECCIÓN DE MALIGNIDAD.....	143
5.10.	INFLUENCIA DE LA USE-PAAF SOBRE LA DECISIÓN DE SEGUIMIENTO O DE TRATAMIENTO DE LAS NEOPLASIAS QUÍSTICAS PANCREÁTICAS BASADO EN CRITERIOS MORFOLÓGICOS RADIOLÓGICOS.....	145
5.11.	PAPEL DE LOS ECOPOTENCIADORES COMO PREDICTORES DE MALIGNIDAD Y DEL TIPO DE NEOPLASIAS QUÍSTICAS PANCREÁTICAS	146
5.12.	UTILIDAD DE LOS PARÁMETROS BIOQUÍMICOS (CEA Y GLUCOSA) PARA LA DETECCIÓN DE QUISTES DE ESTIRPE MUCINOSA	148
5.13.	UTILIDAD DE LA TINCIÓN DE MUCINAS PARA LA DETECCIÓN DE QUISTES DE ESTIRPE MUCINOSA	150
6.	DISCUSIÓN	153
7.	CONCLUSIONES.....	173
	ANEXOS	175
	ANEXO A. CONSENTIMIENTO INFORMADO	176
	ANEXO B. VALORACIÓN POR EL COMITÉ DE ÉTICA DEL HULP	180
	ANEXO C. HOJA DE RECOGIDA DE DATOS	181
	ANEXO D. TRABAJOS PUBLICADOS Y COMUNICACIONES A CONGRESOS.....	183
	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	211

RESUMEN

Los quistes pancreáticos comprenden una amplia variedad de lesiones cada vez más frecuentemente diagnosticadas debido tanto al empleo creciente de técnicas de imagen como al aumento de la esperanza de vida de la población. Entre ellas, las neoplasias quísticas mucinosas son especialmente relevantes por su potencial de malignizar, mientras que otras como las neoplasias quísticas serosas son lesiones benignas. Aunque la ecografía abdominal, la tomografía computerizada y la resonancia magnética suelen ser las pruebas diagnósticas iniciales, muchas veces los hallazgos morfológicos no son suficientes para su diferenciación. La ecoendoscopia se ha convertido en la mejor prueba para su caracterización ya que permite realizar tanto el estudio morfológico como la realización de punción y el análisis del líquido obtenido. Sin embargo, su precisión diagnóstica para la detección de quistes de estirpe mucinosa y la determinación de malignidad sigue siendo baja. El análisis molecular del líquido extraído podría optimizar el diagnóstico mediante la detección de mutaciones que orienten hacia el tipo de quiste y sugieran la presencia de malignidad. La importancia de su caracterización radica tanto en la detección precoz de las lesiones preneoplásicas y malignas como en evitar cirugías innecesarias.

El objetivo principal fue 1) evaluar la rentabilidad diagnóstica del análisis molecular para la identificación de las neoplasias quísticas mucinosas. Como objetivos secundarios se establecieron 2) determinar la capacidad diagnóstica del análisis molecular para la detección de lesiones quísticas malignas, 3) valorar la seguridad de la ecoendoscopia con punción de las lesiones quísticas pancreáticas, 4) determinar los factores epidemiológicos relacionados con estirpe mucinosa y con malignidad, 5) analizar la utilidad de los criterios morfológicos por ecoendoscopia para el diagnóstico de neoplasias quísticas pancreáticas y para la detección de malignidad, 6) evaluar la influencia de la ecoendoscopia con punción sobre la decisión de seguimiento o tratamiento de las neoplasias quísticas pancreáticas basado en criterios morfológicos radiológicos, 7) valorar el uso de los ecopotenciadores como predictores de malignidad y del tipo de neoplasias quísticas pancreáticas, 8) utilidad de los parámetros bioquímicos (CEA y glucosa) para la detección de quistes de estirpe mucinosa, y por último 9) determinar la utilidad de la tinción de mucinas para el diagnóstico de quistes de estirpe mucinosa.

Para llevar a cabo estos objetivos, se diseñó un estudio clínico (NCT03740360) prospectivo observacional y unicéntrico en el que se incluyeron de forma consecutiva 35 pacientes con indicación de ecoendoscopia con punción remitidos a la Unidad de Endoscopias del Hospital Universitario de La Princesa para el estudio o seguimiento de lesiones quísticas pancreáticas durante 18 meses. En esta cohorte se realizó ecoendoscopia con ecopotenciadores y punción para el análisis del líquido citológico, bioquímico y molecular.

La ecoendoscopia con punción permitió clasificar a las lesiones en mucinosas y no mucinosas mediante la combinación de hallazgos morfológicos y análisis del líquido bioquímico y citológico, que conformaron nuestro patrón oro. De las 36 lesiones incluidas, 28 (82,4%) fueron clasificadas como mucinosas y 6 (17,6%) como no mucinosas. Además, siguiendo criterios estándar 5 (13,9%) lesiones fueron clasificadas como malignas. El análisis molecular modificó el diagnóstico de 2/5 (40%) lesiones clasificadas inicialmente como no mucinosas debido a la presencia de mutaciones en los genes *KRAS* y *GNAS*, lo cual impactaría en una modificación de la actitud de seguimiento en el 8% de las lesiones en las que se realizó análisis molecular. Por otro lado, ninguna mutación se relacionó de forma estadísticamente significativa con la estirpe mucinosa ni con la presencia de malignidad, presentando los valores de *KRAS* y/o *GNAS* una S 83,33% (IC95% 63,34-100), E 60% (IC95% 7,06-100), VPP 88,24% (IC95% 69,98-100) y VPN 50% (1,66-98,34) ($p = 0,086$) para el diagnóstico de mucinoso.

Adicionalmente y en relación con los objetivos secundarios podemos concluir que la ecoendoscopia con punción es una técnica segura, produciéndose 1 evento adverso en nuestra serie. El tamaño $\geq 3\text{cm}$ ($p = 0,024$) y la presencia de síntomas ($p = 0,001$) se relacionaron en nuestra muestra con malignidad, sin embargo, no encontramos relación estadísticamente significativa con la dilatación del conducto pancreático principal $> 5\text{mm}$ ($p = 0,088$). La citología con tinción de mucinas ($p = 0,001$), los niveles de CEA $\geq 192\text{ ng/ml}$ ($p = 0,004$) y glucosa $< 50\text{mg/dl}$ ($p = 0,008$) se relacionaron con el diagnóstico de quiste mucinoso. Por último, la ecoendoscopia con ecopotenciadores, mediante la evaluación del patrón de captación de contraste, permitió detectar aquellos con malignidad (OR 58, IC95% 2,56-1313,85).

Los datos obtenidos en este estudio permiten concluir que la ecoendoscopia con punción, análisis molecular y empleo de ecopotenciadores mejoran la clasificación de

lesiones quísticas pancreáticas y su potencial premaligno mediante la detección de quistes de estirpe mucinosa.

ABSTRACT

Pancreatic cysts consist of a wide variety of lesions that are becoming increasingly diagnosed with the growing use of imaging techniques and the longer life expectancy of the population. Of these, mucinous cystic neoplasms are especially relevant because of their risk of malignancy, while others such as serous cystic neoplasms are considered benign lesions. Although abdominal ultrasound, computerized tomography and magnetic resonance imaging are usually the baseline diagnostic tests, morphological findings are frequently suboptimal for their differentiation. Endoscopic ultrasound has become the best test for their characterization as it allows to perform a morphological evaluation and also puncture and cyst fluid analysis, although its diagnostic accuracy for the detection of mucinous cysts and malignancy is still limited. Molecular analysis could optimize the diagnosis by detecting mutations that are related to the type of cyst and those that suggest malignancy. The importance of an adequate characterization is based on the early detection of preneoplastic and malignant lesions and in avoiding unnecessary surgeries.

The aim of this study was 1) to evaluate the diagnostic yield of molecular analysis for the detection of mucinous cysts. As secondary objectives, we determined 2) evaluation of the diagnostic yield of molecular analysis for the detection of malignant pancreatic cysts, 3) the safety of endoscopic ultrasound guided fine needle aspiration of pancreatic cystic lesions, 4) to determine epidemiological factors related to mucinous cyst and malignancy, 5) assess the usefulness of endoscopic ultrasound criteria to diagnose pancreatic cystic neoplasm and to detect malignant cysts, 6) to assess the influence of endoscopic ultrasound fine-needle aspiration on the decision of follow-up or surgical treatment of pancreatic cystic neoplasm based on radiological criteria, 7) role of echo-enhancers in prediction of malignancy and subtype of pancreatic cystic neoplasm, 8) benefit of biochemical parameters (CEA and glucose) for the identification of mucinous cysts, and finally 9) to determine the role of mucin staining for the detection of mucinous cysts.

To carry out these objectives, we designed a unicentric prospective observational study (NCT03740360). 35 patients with indication of endoscopic ultrasound and fine needle aspiration for the study of pancreatic cysts referred to the Endoscopy Unit of the Hospital Universitario de La Princesa were consecutively included over a period of 18 months. In

this cohort endoscopic ultrasound was performed using contrast agents and fine-needle aspiration with cytological, biochemical and molecular cyst fluid analysis.

Endoscopic ultrasound-guided fine needle aspiration allowed us to classify the lesions into mucinous and non-mucinous based on the combination of morphological, biochemical and cytological findings, which formed our gold standard. Of the 36 lesions included, 28 (82.4%) were classified as mucinous and 6 (17.6%) as non-mucinous. Furthermore, following standard criteria, 5 (13.9%) lesions were classified as malignant. Molecular analysis modified the diagnosis of 2/5 (40%) lesions initially classified as non-mucinous due to the presence of mutations in *KRAS* and *GNAS*, which would impact in a modification of the follow-up attitude in 8% of the cysts in which molecular analysis was successfully performed. However, in our study no mutations were significantly related to mucinous cysts or the presence of malignancy, achieving *KRAS* and/or *GNAS* values of S 83.33% (CI95% 63.34-100), E 60% (CI95% 7.06-100), PPV 88.24% (CI95% 69.98-100) and NPV 50% (1.66-98.34) ($p = 0.086$) for the diagnosis of mucinous cystic lesions.

As for secondary objectives we can conclude that endoscopic ultrasound-guided fine needle aspiration is a safe technique, with 1 adverse event in our series. The size ≥ 3 cm ($p = 0.024$) and the presence of symptoms ($p = 0.001$) were statistically related with malignancy, however, we did not find a statistically significant relation with main pancreatic duct dilatation ≥ 5 mm ($p = 0.088$). Cytology with mucin staining ($p = 0.001$), CEA 192 ng/ml ($p = 0.004$) and glucose levels < 50 mg/dl ($p = 0.008$) were statistically related to the diagnosis of mucinous cyst. And last, contrast-enhanced endoscopic ultrasound helped to detect those with malignancy by evaluating the contrast enhancement pattern (OR 58, IC95% 2,56-1313,85).

The results of this study allowed us to conclude that endoscopic ultrasound-guided fine needle aspiration with molecular analysis and evaluation with contrast agents improves the classification of pancreatic cystic lesions and their malignant potential by detecting mucinous cysts.

ABREVIATURAS Y SÍMBOLOS

- ACG: American College of Gastroenterology
- ACP: Adenocarcinoma pancreático
- ADN: ácido desoxirribonucleico
- AEMPS: Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios
- AF: antecedentes familiares
- AGA: American Gastroenterological Association
- AKT1: AKT serine/threonine kinase 1
- ALK: ALK receptor tyrosine kinase
- AMS: Arteria mesentérica superior
- AP: antecedentes personales
- APC: APC regulator of WNT signaling pathway
- ASA: American Society of Anesthesiologists
- BRAF: B-Raf proto-oncogene, serine/threonine kinase
- cc: centímetros cúbicos
- CDH1: cadherin 1
- CDKN2A: cyclin dependent kinase inhibitor 2A
- CEIm: Comité Ético de la Investigación con medicamentos
- CLE: endomicroscopía láser confocal
- cm: centímetros
- CPP: Conducto pancreático principal
- CPRE: Colangiopancreatografía retrógrada endoscópica
- CPRM: Colangiopancreatografía por resonancia magnética
- CTNNB1: catenin beta 1
- DDR2: discoidin domain receptor tyrosine kinase 2
- E: especificidad
- EDA: Endoscopia Digestiva Alta
- EGFR: epidermal growth factor receptor
- ERBB2 (HER2/neu): erb-b2 receptor tyrosine kinase 2
- ESGE: European Society of Gastrointestinal Endoscopy
- ESR1: estrogen receptor 1
- FBXW7: F-box and WD repeat domain containing 7
- FDA: Food and Drug Administration
- FDG: fluorodesaoxiglucosa
- FGFR1: fibroblast growth factor receptor 1
- FGFR2: fibroblast growth factor receptor 2
- FGFR3: fibroblast growth factor receptor 3
- FISH: hibridación fluorescente in situ
- FOXL2: forkhead box L2
- GNA11: G protein subunit alpha 11

- GNAQ: G protein subunit alpha Q
- GNAS: GNAS complex locus
- HRAS: HRas proto-oncogene, GTPase
- IAP: International Association of Pancreatology
- IC: Intervalo de Confianza
- IDH1: isocitrate dehydrogenase (NADP+) 1, cytosolic
- IDH2: isocitrate dehydrogenase (NADP+) 2, cytosolic
- IDUS: Intraductal Ultrasonography
- IMP: patología molecular integrada
- IQR: rango intercuartílico
- iv: intravenoso
- KIT: KIT proto-oncogene, receptor tyrosine kinase
- KRAS: KRAS proto-oncogene, GTPase
- l: litros
- LOH: pérdida de heterocigosidad
- MAP2K1: mitogen-activated protein kinase kinase 1
- MET: Proto-Oncogene, Receptor Tyrosine Kinase
- ml: mililitros
- mm: milímetros
- MUC: mucinas
- MUC1: mucina 1
- MUC2: mucina 2
- MUC5: mucina 5
- ng: nanogramos
- NGS: Next-Generation Sequencing
- NOTCH1: notch receptor 1
- NQM: Neoplasia quística mucinosa
- NQP: Neoplasia quística pancreática
- NQS: Neoplasia quística serosa
- NRAS: NRAS proto-oncogene, GTPase
- OR: odds ratio
- PanIN: neoplasia pancreática intraepitelial
- P53: proteína tumoral p53
- PCR: reacción en cadena de la polimerasa
- PDGFRA: platelet derived growth factor receptor alpha
- PET: Tomografía por emisión de positrones
- PIK3CA: phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate 3-kinase catalytic subunit alpha
- PIK3R1: phosphoinositide-3-kinase regulatory subunit 1
- PP: polipéptido pancreático
- PTEN: phosphatase and tensin homolog

- PsGs: *pseudo-goldstandar*
- qPCR: reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real
- RET: rearranged during transfectio proto-oncogen, receptor tyrosin kinase
- RM: Resonancia Magnética
- RNF43: ring finger protein 43
- ROS1: ROS proto-oncogene 1, receptor tyrosine kinase
- S: sensibilidad
- S-CPRM: colangiopancreatorresonancia con secretina
- SMAD4: SMAD family member 4
- TC: tomografía computerizada
- TGFBR2: transforming growth factor beta receptor 2
- tNGS: targeted Next-Generation Sequencing
- TP53: tumor protein p53
- TPMI: Tumor papilar mucinoso intraductal
- TPMI-RL: Tumor papilar mucinoso intraductal de rama lateral
- TPMI-CP: Tumor papilar mucinoso intraductal de conducto principal
- U: unidades
- US: ultrasonografía
- USE: Ultrasonografía Endoscópica
- USE-CE: Ultrasonografía Endoscópica con contraste ecográfico
- USE-PAAF: Ultrasonografía Endoscópica con Punción con Aguja Fina
- VHL: von Hippel-Lindau tumor suppressor
- VMS: Vena mesentérica superior
- VPP: valor predictivo positivo
- VPN: valor predictivo negativo
- WGO: World Gastroenterology Organizatio

1. INTRODUCCIÓN

Como resultado de la mejoría tecnológica y del aumento del número de estudios radiológicos realizados se ha producido un incremento en la prevalencia de los quistes pancreáticos diagnosticados^{2,3}. Se llegan a identificar en un 3% de las tomografías computerizadas (TC) y 20% de las resonancias magnéticas (RM) realizadas por otros motivos^{4,5}, observándose un aumento de su frecuencia relacionado con la edad^{6,7}. Su diagnóstico puede generar un elevado grado de preocupación tanto en pacientes como en médicos ya que no siempre es posible llegar al diagnóstico de certeza, llevando en ocasiones a la realización de múltiples pruebas complementarias, a veces invasivas, e incluso a su resección de forma innecesaria. Adicionalmente estas exploraciones conllevan un aumento del coste asociado a su diagnóstico.

Las lesiones quísticas pancreáticas engloban una amplia variedad de lesiones incluyendo tanto lesiones neoplásicas como no neoplásicas. Dentro del grupo de las no neoplásicas la más frecuente es el pseudoquiste siendo importante diferenciarlo de aquellas lesiones neoplásicas, como son las neoplasias quísticas pancreáticas (NQP) verdaderas. En ocasiones, ésta distinción es difícil en base a criterios morfológicos aislados⁸. La importancia de la correcta identificación de estas lesiones quísticas radica en el potencial de malignidad que presentan algunas de éstas, como son la neoplasia quística pseudopapilar y los quistes de estirpe mucinosa, englobándose dentro de esta última categoría la neoplasia quística mucinosa (NQM) y el tumor papilar mucinoso intraductal (TPMI). Los TPMI pueden ser de conducto principal (TPMI-CP), de rama lateral (TPMI-RL) o mixtas. No todas las neoplasias mucinosas presentan el mismo potencial de malignización. Según publicaciones recientes las NQM presentan un potencial de malignidad que oscila entre el 10-17%^{9,10}, los TPMI-CP del 38-68%^{2,9}, los TPMI-RL del 12-47%^{2,9} y del 8-20% para las neoplasias sólidas pseudopapilares⁹. En cambio, los quistes serosos, los quistes simples y los linfoepiteliales se consideran lesiones benignas habiéndose descrito malignidad en quistes serosos de forma anecdótica¹. También es importante destacar que la simple presencia de un TPMI implica un mayor riesgo de desarrollar cáncer de páncreas que el de la población general¹¹.

Por todo ello es importante la adecuada caracterización ya que aquellas lesiones con potencial de malignidad o riesgo de desarrollar adenocarcinoma pancreático asociado requieren seguimiento o tratamiento quirúrgico, a diferencia de las lesiones benignas⁸.

La neoplasia pancreática es una de las causas más frecuentes de muerte relacionada con cáncer y presenta mal pronóstico en el momento del diagnóstico con una supervivencia a 5 años inferior al 10%¹². Tan sólo un 20-25% de las neoplasias de páncreas van a ser subsidiarias de tratamiento quirúrgico al diagnóstico y un 80% de éstas van a presentar recurrencia a pesar de éste, por lo que el diagnóstico y tratamiento precoz es fundamental, siendo de gran importancia la identificación de las lesiones precursoras de adenocarcinoma pancreático como son las neoplasias pancreáticas intraepiteliales (PanIN) y las NQP¹³.

La mayor parte de las NQP se detectan de forma incidental en pruebas radiológicas realizadas por otros motivos. No obstante, en muchos casos es difícil diferenciar entre los distintos tipos de quistes y el riesgo de malignidad sólo por criterios clínicos y morfológicos puesto que las diferentes lesiones pueden presentar características similares, siendo la precisión diagnóstica para la diferenciación entre lesiones de estirpe mucinosa y no mucinosa subóptima con la TC y RM¹⁴.

La ultrasonografía endoscópica (USE) permite no solo valorar los criterios morfológicos sino también la realización de punción-aspiración con aguja fina (USE-PAAF) y análisis del líquido¹⁵. La realización de USE-PAAF añadida al TC o a la RM ha permitido aumentar la precisión para el diagnóstico de lesiones quísticas pancreáticas. En el estudio de Khashab et al encontraron que la USE-PAAF aumentaba la precisión para el diagnóstico de neoplasias quísticas hasta un 36% y 54% respecto a la TC y la RM respectivamente¹⁶, obteniéndose en este estudio una sensibilidad (S) para el diagnóstico de lesiones neoplásicas del 76% con la EUS, 48% con el TC y 34% con la RM. Dado que permite optimizar el diagnóstico y por tanto modificar el manejo de estos pacientes, la USE-PAAF se ha convertido en la técnica diagnóstica de elección en el diagnóstico de lesiones quísticas pancreáticas¹⁵. Con el líquido obtenido es posible realizar el estudio citológico y bioquímico (CEA, amilasa y glucosa), que permitirá definir el tipo de quiste y, en el caso de la citología, detectar la presencia de malignidad. No obstante, la citología ofrece un bajo rendimiento diagnóstico, sobre todo en ausencia de componente sólido debido a la obtención frecuente de una muestra acelular o paucicelular, siendo la S inferior al 50%

en quistes mucinosos¹⁷. En conclusión, cabe destacar que, a pesar del análisis citológico y bioquímico, en ocasiones el diagnóstico sigue siendo subóptimo.

Actualmente existen varias guías de práctica clínica para el diagnóstico y tratamiento de las NQP siendo las más empleadas la guía de Fukuoka (IAP), la Europea y la Americana (AGA). No obstante, la IAP y la guía Europea conllevan la realización de cirugías innecesarias con la consecuente morbilidad asociada y la AGA una pérdida de S para la detección de malignidad¹⁰. Por ello actualmente se investiga el papel que puede tener la realización del análisis molecular en el líquido obtenido mediante USE-PAAF para optimizar el diagnóstico.

Diversos estudios han demostrado que existen mutaciones en el ADN (ácido desoxirribonucleico) que se asocian con un determinado tipo de quistes y que por tanto podrían ayudar en su adecuada caracterización: las IPMN se asocian con mutaciones en los genes *KRAS*, *GNAS* y/o *RNF43*, las NQM se asocian con mutaciones en *KRAS* y/o *RNF43* pero no en *GNAS*, las neoplasias quísticas serosas pueden presentar mutaciones en *VHL* y las neoplasias sólidas pseudopapilares se caracterizan por mutaciones en *CTNNB1* pero no en *KRAS*, *GNAS*, *RNF43* ni en *VHL*^{18,19}. Además, mutaciones en los genes *TP53*, *PIK3CA*, *PTEN*, *CDKN2A* y/o *SMAD4* se asocian con neoplasia avanzada en el seno de un quiste de estirpe mucinosa. Por todo ello se considera que el análisis molecular podría ayudar tanto en la caracterización de quistes como en la identificación de quistes con presencia de malignidad^{18,19} llegando a recomendarse la determinación al menos de *KRAS* en algunas guías de práctica clínica²⁰.

Uno de los hallazgos de sospecha de malignidad que puede justificar la indicación de tratamiento quirúrgico en las NQP es la presencia de nódulos murales. Sin embargo, su adecuada detección es subóptima mediante TC, RM y USE²¹. El empleo de contraste ecográfico durante la USE (USE-CE) permite una mejor visualización de las estructuras vascularizadas (tabiques y nódulos) mientras que el contenido del quiste (moco, detritus) no va a ser captante, siendo de utilidad por tanto para diferenciar nódulos murales de acúmulos de mucina o de detritus y para diferenciar los tumores quísticos de los pseudoquistes²².

El objetivo primario de este estudio será evaluar la rentabilidad diagnóstica del análisis molecular para la identificación de neoplasias quísticas mucinosas y para la detección de malignidad. Adicionalmente evaluaremos la seguridad de la USE-PAAF en el estudio de

las neoplasias quísticas pancreáticas, los hallazgos morfológicos por USE relacionados con malignidad, la capacidad de la USE-PAAF de modificar el diagnóstico y el tratamiento de estas lesiones, y el papel de los parámetros bioquímicos, tinción de mucinas y de la USE-CE para la identificación de quistes de estirpe mucinosa y de malignidad.

2. EVIDENCIA PREVIA

2.1.ASPECTOS GENERALES SOBRE LA GLÁNDULA PANCREÁTICA

El páncreas es una glándula intraabdominal, retroperitoneal, localizada a la izquierda del duodeno y a la derecha del bazo, con forma aplanada y alargada, de unos 12-20 cm de longitud y 110 gramos de peso, que se localiza a nivel de la segunda vértebra lumbar. Está recubierto por un tejido conjuntivo fino, pero no tiene una cápsula verdadera.

- **HISTOLOGÍA**

La glándula pancreática posee un componente exocrino y otro endocrino (**Figura 1**). El componente exocrino está constituido por células epiteliales dispuestas en estructuras esféricas u ovoides huecas llamados acinos pancreáticos, formados por las células acinares y las centroacinares. Las células acinares sintetizan y liberan enzimas digestivas como amilasa, lipasa, carboxilesterasa, esterolesterasa, ADNasa y ARNasa y proenzimas pancreáticas como el tripsinógeno, quimiotripsinógeno, procarboxipeptidasa y la proelastasa, que serán activados posteriormente en la luz intestinal para evitar la digestión del propio parénquima pancreático. Las células centroacinares son las encargadas de la secreción de enzimas, agua, electrolitos y bicarbonato que son liberados a la luz duodenal por el conducto pancreático principal y el conducto accesorio, colaborando en el proceso de la digestión al neutralizar el contenido ácido duodenal y permitir la activación de las enzimas pancreáticas.

El componente endocrino se agrupa en islotes de Langerhans, formados por cúmulos de células secretoras de hormonas que son liberadas al torrente circulatorio. Hay varios tipos de células endocrinas: células alfa, beta, delta y F. Las células alfa sintetizan y liberan glucagón, que aumenta los niveles de glucemia y se distribuyen de forma periférica, representando el 10-20% del volumen del islote. Las células beta se encargan de la producción y liberación de insulina, hormona hipoglucemiante. Las células delta producen somatostatina, cuya función es controlar indirectamente la glucemia al inhibir la secreción de insulina y glucagón, inhibir la contracción del músculo del aparato digestivo y de la vesícula biliar tras finalizar la digestión y disminuir la secreción de enzimas pancreáticas, secretina, gastrina y pepsina generando una disminución en la absorción de nutrientes. Por último, las células F se

encargan de producir y liberar el polipéptido pancreático (PP), que controla y regula la secreción exocrina del páncreas.

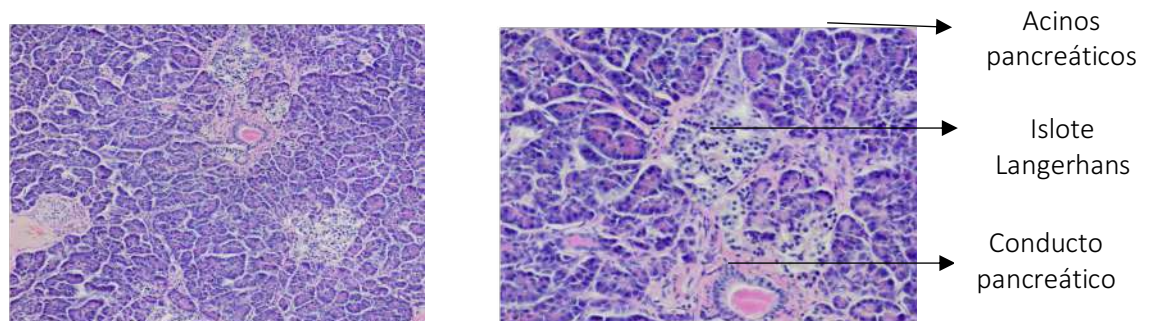


Figura 1: Histología glándula pancreática obtenida mediante ecoendoscopia con punción con aguja de biopsia (Hospital Universitario de La Princesa, cortesía del departamento de Anatomía Patológica). a) Histología de la glándula pancreática normal. b) A mayor aumento es posible apreciar con detalle los acinos pancreáticos, islotes de Langerhans y conducto pancreático con contenido secretado en su interior

• ANATOMÍA

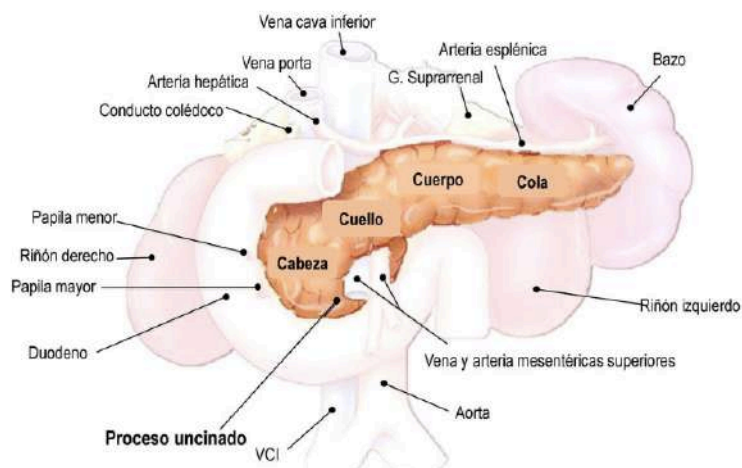
El páncreas se divide en 5 partes (**Figura 2**):

- Cabeza: Es ancha y aplanada en sentido anteroposterior, y se encuentra rodeada por la segunda y tercera porción duodenal formando junto con la porción distal del colédoco una unidad. La superficie anterior es adyacente al píloro, primera porción duodenal y al colon transversal. La superficie posterior protruye sobre el hilio y la cara medial del riñón derecho, la vena cava inferior, los vasos renales derechos, la vena gonadal derecha y los pilares derechos del diafragma.
- Proceso uncinado: Se trata de una porción de tamaño y forma variable, incluso puede llegar a faltar, que se extiende de forma posteromedial a la cabeza pancreática, y que se encuentra limitado anteriormente por la arteria mesentérica superior (AMS) y posteriormente con la vena cava inferior y la arteria aorta.
- Cuello: Se dispone de forma oblicua, junto con el cuerpo y la cola en la porción posterior del abdomen, y une el cuerpo con la cabeza pancreática. Posterior a éste se localiza la confluencia entre la vena porta y las venas mesentérica superior y esplénica. Anterior se encuentra parcialmente cubierto por el píloro

y el peritoneo del epiplón menor, y se extiende lateralmente hacia la derecha hasta alcanzar la arteria pancreatoduodenal superior (rama de la arteria gastroduodenal).

- Cuerpo: Es retroperitoneal, manteniéndose contra la aorta por el peritoneo del epiplón menor. Está limitado anteriormente por el antro y cuerpo gástricos, y el mesocolon transversal. Posteriormente se encuentra la raíz de la AMS, el pilar izquierdo del diafragma, riñón y glándula suprarrenal izquierda y la vena esplénica. Dado que su porción media está localizada encima de la columna lumbar es la zona más vulnerable a sufrir traumatismos.
- Cola: No existe un límite bien definido entre cuerpo y cola, sino que se trata más bien de una continuación. Es relativamente móvil y llega hasta el hilio esplénico. Posteriormente se encuentra la vena esplénica. La cola y la arteria esplénica se encuentran contenidas entre ambas capas del ligamento esplenorrenal.

FIGURA 2: Anatomía pancreática



Netter F. Atlas de Anatomía Humana. 6ª ed. Elsevier. 2015

• ESTRUCTURAS DUCTALES

- Conducto pancreático principal (CPP): también llamado de Wirsung. Comienza cerca de la cola pancreática y discurre por el cuerpo y cola en posición intermedia del eje cráneo-caudal y ligeramente posterior hacia la cabeza del páncreas, donde gira en dirección caudal y posterior. Se forma a

partir de los conductillos que drenan los lóbulos de la glándula, por lo que a nivel de la cola presenta menor calibre que a nivel de la cabeza. Se aceptan unos límites normales diferentes en función de la localización, aunque teniendo en cuenta que pueden estar aumentados con la edad y enfermedades pancreáticas:

- Cabeza: 4-5mm
 - Cuerpo: 3-4mm
 - Cola: 2-3 mm
- Conducto pancreático accesorio o de Santorini: Aparece con frecuencia y se localiza anterior al colédoco. Se encuentra permeable en aproximadamente el 10% de los adultos, drenando a través de la papila accesorio o menor situada proximal a la ampolla de Vater. Generalmente se encuentra comunicado con el conducto pancreático principal drenando la mayor parte de la secreción pancreática junto con la bilis a través de la papila mayor, aunque en aproximadamente el 10% de las personas no existe esta comunicación por ausencia de fusión de los conductos embrionarios dorsal y ventral. En este caso, la mayor parte de secreciones drenará por la papila accesorio y sólo aquellas originadas en la apófisis unciforme y cabeza pancreática (páncreas ventral embrionario) serán drenadas por la papila mayor.

• VASCULARIZACIÓN

El páncreas se encuentra irrigado por ramas procedentes del tronco celíaco y de la AMS:

- Duodeno y cabeza pancreática: Son irrigados por dos arcadas de arterias pancreaticoduodenales. Por un lado, las arterias pancreaticoduodenales superiores anterior y posterior, que son ramas de la arteria gastroduodenal, a su vez rama de la arteria hepática común (tronco celíaco). Por otro, las arterias pancreaticoduodenales inferiores anterior y posterior, ramas de la AMS.
- Cuerpo y cola pancreáticos: Reciben aporte vascular arterial de la arteria esplénica, que se localiza en el límite posterosuperior del páncreas, dando la arteria pancreática inferior, que discurre por la porción dorsal del páncreas.

El drenaje venoso se asemeja a la irrigación arterial, formado por tributarias de la vena esplénica, que discurre inferior a la arteria esplénica en la cara posterior del páncreas, y de la vena mesentérica superior (VMS). Estas confluyen por detrás del cuello pancreático y drenan a la vena porta.

- **DRENAJE LINFÁTICO**

Los linfáticos de las diferentes partes del páncreas drenan en:

- Cola → ganglios del hilio esplénico
- Cuerpo → ganglios pancreaticoesplénicos, localizados en el margen superior del páncreas, que a su vez drenan en los ganglios celíacos.
- Cabeza → ganglios mesentéricos superiores

- **INERVACIÓN**

El páncreas recibe inervación de los plexos hepático y celíaco por fibras simpáticas procedentes de nervios esplácnicos con efecto inhibitorio, y por fibras parasimpáticas procedentes del nervio vago que estimulan la función endocrina y exocrina.

2.2.APROXIMACIÓN DIAGNÓSTICA A LA PATOLOGÍA PANCREÁTICA

Con el desarrollo de las técnicas de imagen y la toma de muestras guiada por algunas de ellas como la ecografía (US), la TC abdominal o la USE se ha conseguido avanzar en el conocimiento de las patologías pancreáticas. Hoy en día se puede llegar al diagnóstico de pancreatitis aguda (incluso formas leves) y sus posibles complicaciones, de pancreatitis crónica y de tumores pancreáticos.

El cáncer de páncreas es la séptima causa global de muerte relacionada con cáncer en países industrializados y la tercera en Estados Unidos. Según el registro GLOBOCAN en 2018 causó 432.242 muertes a nivel mundial. Además, en 2018 se diagnosticaron 458.918 nuevos casos de cáncer pancreático y se esperan otros 355.317 hasta el 2040²³. A pesar de que la supervivencia a 5 años ha aumentado globalmente del 6% al 9% en los últimos años, ésta sigue siendo baja. Mediante la realización de pruebas de imagen es posible orientar el diagnóstico hacia un proceso maligno y realizar el correspondiente estudio de extensión, pudiendo planificar el tratamiento más adecuado en cada caso

concreto. No obstante, a pesar de los avances en el diagnóstico y tratamiento del cáncer de páncreas, el diagnóstico frecuentemente se realiza en estadios avanzados en los que la supervivencia a 5 años no supera el 5%. Su detección precoz y la estadificación adecuada es imprescindible para considerar la indicación de cirugía con intención curativa y evitar las cirugías innecesarias ya que asocian elevada morbilidad.

- **ECOGRAFÍA ABDOMINAL**

La US se considera la técnica de exploración inicial en casos de dolor abdominal y de ictericia obstructiva dado que se trata de un método no invasivo, que no implica someter al paciente a radiaciones ionizantes, que es de bajo coste y de fácil acceso. En algunos casos, patologías pancreáticas como pancreatitis aguda, quistes o tumores sólidos pueden debutar con esta sintomatología^{24,25}. No obstante, debido a la frecuente interposición de gas y la presencia de grasa abdominal, en muchas ocasiones no se consigue visualizar adecuadamente el páncreas siendo menos sensible que otras técnicas.

La S y precisión de este método es altamente dependiente de la experiencia del explorador, del tamaño de la lesión y de la composición corporal del paciente, por lo que los datos sobre S para detección de cáncer de páncreas son variables, encontrando cifras en diferentes estudios entre el 50-90%²⁶. Además, en ausencia de contraste, es difícil diferenciar un cáncer de páncreas de otras lesiones pancreáticas focales como pancreatitis crónica, puesto que pueden mostrar una imagen ecográfica similar. Por ello, aunque es una técnica de imagen inicial, no excluye la presencia de lesiones de pequeño tamaño y, en caso de sospecha de patología pancreática, es recomendable realizar otra técnica de imagen complementaria.

- **TOMOGRAFÍA COMPUTERIZADA ABDOMINAL**

Se trata de una técnica de imagen ampliamente disponible y de relativo bajo coste que, gracias al empleo de contraste yodado intravenoso (iv), ofrece elevada información sobre lesiones en el páncreas y vasos peripancreáticos.

Es generalmente la primera prueba a realizar en caso de patología pancreática, sobre todo en aquellos casos con clínica aguda dada la ausencia de interferencia por gas intestinal(8). Tiene la ventaja de permitir valorar tanto el páncreas como el resto de

estructuras intraabdominales, permitiendo realizar un diagnóstico diferencial y aportando información sobre la posible extensión local, presencia de adenopatías o metástasis. En un estudio realizado por Legmann et al se determinó que la S está relacionada con el tamaño de la lesión, siendo del 67% para aquellas lesiones menores de 15mm y del 100% para aquellas mayores de 15mm²⁷. Es la técnica de imagen de elección previa a la cirugía de un cáncer de páncreas y también se emplea como método de seguimiento tras cirugía o tratamiento oncológico, aunque puede no detectar metástasis hepáticas, implantes peritoneales o lesiones pancreáticas de pequeño tamaño^{26,28}.

Para la realización de un TC abdominal de estudio pancreático se emplea contraste yodado y se suele realizar una primera fase arterial de páncreas, una fase venosa de abdomen completo y una fase tardía pancreática. La mayor parte de las masas pancreáticas son hipovasculares y se visualizan mejor durante la fase venosa, aunque algunos tumores como los neuroendocrinos y algunas de las metástasis pueden ser hipervasculares. Uno de los signos indirectos que se emplea para sospechar neoplasia pancreática aunque no se llegue a visualizar la lesión es la dilatación simultánea del conducto biliar y del pancreático o “signo del doble conducto”²⁸.

El TC abdominal también permite el estudio de quistes pancreáticos, aunque su precisión diagnóstica para el tipo de quiste es inferior a la de la RM y de la USE por su menor resolución de contraste. El empleo de contraste iv ayuda a distinguir los pseudoquistes, en los que la pared no capta contraste, de las neoplasias quísticas. En estas últimas el contraste iv puede realzar la cápsula fibrosa, los septos y nódulos murales de tumores quísticos²⁹, aunque la tasa de detección de nódulos murales es menor que con la USE⁴. Según diversos estudios se calcula que permite diagnosticar el tipo específico de quiste pancreático en un 40-81% de los casos³⁰ y detectar malignidad en un 71-80%³¹. Sahani et al realizaron un estudio prospectivo para evaluar la precisión del TC abdominal en la caracterización de quistes pancreáticos y en la predicción de malignidad. Incluyeron 114 pacientes con quistes pancreáticos de entre 31-160mm intervenidos quirúrgicamente. Las lesiones fueron evaluadas por dos radiólogos y obtuvieron una precisión diagnóstica para la diferenciación entre mucinoso/no mucinoso del 82% y 85 %, y del 86% y 85% respectivamente para identificar malignidad. No obstante, incluyeron lesiones mayores a 30mm y es en las

lesiones de pequeño tamaño en las que las técnicas de imagen radiológicas tienen mayores dificultades para realizar una adecuada caracterización ³². La precisión diagnóstica del TC para la detección de comunicación con el CPP y de multifocalidad también va a ser inferior que la de la RM, siendo del 18% y 50% frente al 73% y 73% respectivamente ³³. Por ello se puede concluir que la TC no es la prueba de elección para la caracterización de los quistes pancreáticos. No obstante su uso debería considerarse para la detección de calcificaciones sobretodo cuando se desee diferenciar entre pseudoquistes en el seno de una pancreatitis crónica de NQP, cuando se sospeche degeneración maligna o cáncer de páncreas concomitante para el estudio de extensión, y cuando se sospeche recurrencia postquirúrgica de cáncer páncreas³⁰.

Conlleva riesgo de daño renal al emplear contraste yodado y también expone al paciente a radiación por lo que se deben seleccionar adecuadamente los pacientes y por ello se prefiere realizar el seguimiento con otras exploraciones como son la RM y la USE.

- **RESONANCIA MAGNÉTICA ABDOMINAL**

Comparado con la TC, la RM ofrece una mejor resolución de contraste para los tejidos blandos como el páncreas. Es superior en la detección de tumores de pequeño tamaño, cáncer de páncreas con la misma atenuación que el parénquima subyacente, lesiones focales en el seno de una pancreatitis crónica y para valorar infiltración grasa por las lesiones pancreáticas²⁶. Los tumores pancreáticos se caracterizan por ser hipointensos respecto al parénquima pancreático en T1. En el estudio realizado por O'Neill et al calcularon que la RM tiene una S del 96% y una especificidad (E) del 98,6% para la detección de adenocarcinoma pancreático³⁴. Además, ofrece la ventaja de que no conlleva exposición a radiación, y que en caso de emplear contraste para la caracterización de tumores pancreáticos será menos frecuente el daño renal, aunque también se han descrito casos en pacientes con función renal alterada previamente. Por ello se trata de una buena alternativa para el seguimiento de lesiones pancreáticas³⁰.

Otra de las ventajas de esta técnica es que permite valorar la vía biliar, el Wirsung y la posible conexión de las lesiones con este gracias a la combinación con la secuencia

de colangiopancreatografía por resonancia magnética (CPRM)³⁵. Se trata de una secuencia potenciada en T2 en la que los jugos biliar y pancreático van a presentar una mayor intensidad de señal. Así mismo ofrece muy buenos resultados en la detección de litiasis en la vía biliar o en el Wirsung siendo una alternativa no invasiva de la colangiopancreatografía retrógrada endoscópica (CPRE) en el diagnóstico de éstas^{26,28}.

En condiciones fisiológicas los conductos pancreáticos no siempre son valorables con la CPRM. La secretina es una hormona producida por la mucosa intestinal, especialmente en el duodeno, que estimula la secreción de fluido por el páncreas exocrino produciendo una dilatación transitoria de los conductos pancreáticos. De esta forma, la CPRM estimulada con secretina (S-CPRM) permite mejorar el diagnóstico de alteraciones ductales, patología pancreática y evaluar la capacidad exocrina del páncreas mediante la medición del llenado duodenal tras su administración³⁶. Se trata de una técnica que permite diagnosticar de forma no invasiva fases precoces de pancreatitis crónica en las que, debido a la insuficiencia pancreática exocrina, se produce una disminución del relleno duodenal y un menor aumento de la dilatación del conducto pancreático tras su administración³⁷. En el caso de las NQP la S-CPRM permite mejorar la detección de comunicación de la lesión quística con el conducto pancreático principal³⁶.

En el diagnóstico de las NQP ha demostrado superioridad frente a la TC en la detección de multifocalidad, evaluación de septos, nódulos, afectación del CPP o de las ramas laterales, y de la comunicación con el CPP^{30,31}, ofreciendo una S 91,4% y una E 89,7% para valorar dicha comunicación³⁸. En algunas series reportan cifras de hasta el 79-82% de precisión en la identificación de quistes de estirpe mucinosa^{33,39,40}, y una precisión del TC y RM para predecir malignidad del 73-79%⁴¹.

- **TOMOGRAFÍA POR EMISIÓN DE POSITRONES (PET)**

Se trata de una técnica de imagen no invasiva que nos ofrece una imagen metabólica más que morfológica al basarse en la diferente captación de glucosa por los distintos tejidos. Consiste en la administración por vía intravenosa del análogo radiactivo de la glucosa, fluorodesaoxiglucosa F¹⁸ (FDG), que será captado en mayor medida por las células tumorales.

El páncreas normal no se suele visualizar con la FDG-PET, en cambio, las neoplasias malignas van a aparecer como una zona focal de aumento de captación en el lecho pancreático. Además, permite la detección de metástasis hepáticas que aparecerán como lesiones metabólicamente captantes en el parénquima hepático.

FDG-PET tiene una S y E mayor en la detección de carcinoma de páncreas que la TC abdominal (92% y 85% vs 65% y 62%)⁴², aunque menor que la RM abdominal⁴³. La PET también podría resultar útil en los tumores quísticos pancreáticos dado que detecta la actividad metabólica dentro del quiste, relacionándose este hallazgo con la presencia de malignidad y la necesidad de tratamiento quirúrgico. En un estudio italiano encontraron que la PET tiene una S 94% y una E 97% para la detección de neoplasias quísticas malignas, frente al 65% y 87% respectivamente de la TC⁴⁴.

- **ULTRASONOGRAFÍA ENDOSCÓPICA**

La USE, también llamada ecoendoscopia, es una técnica diseñada en la década de 1980 que combina la endoscopia digestiva y la ecografía. Fue creada para salvar las dificultades diagnósticas de otras técnicas de imagen como es el caso de la ecografía abdominal, en la que la imagen se ve interferida por la interposición de gas, grasa y hueso.

Ofrece la ventaja de permitir un estudio detallado del parénquima pancreático, de los conductos pancreático y biliar, y de las estructuras vecinas dada la proximidad anatómica del ecoendoscopio con la región biliopancreática. Hoy en día **la USE ha revolucionado el diagnóstico y el manejo de numerosas patologías digestivas, siendo un examen prácticamente imprescindible en el abordaje diagnóstico y terapéutico del paciente con patología pancreática**^{45,46}. Actualmente se trata de la técnica de imagen más fiable y precisa para la detección y el diagnóstico de lesiones pancreáticas incluyendo el cáncer de páncreas, sobretudo en lesiones de pequeño tamaño^{18,47}.

Existen dos tipos de ecoendoscopios: lineal (sectorial) y radial (circunferencial). El radial permite una visión 360 grados y tiene un canal por el que se puede introducir una pinza para tomar biopsias, pero no permite realizar terapéutica puesto que para ello se requiere un canal de trabajo de mayor calibre. En cambio, el ecoendoscopio lineal permite una visión de 170-180 grados, en función del dispositivo, y cuenta con un canal de trabajo que permite el empleo de instrumentos para punción, drenajes y

colocación de endoprótesis⁴⁵.

La exploración de la glándula pancreática se realiza desde las estaciones gástrica y duodenal y es posible realizarla con ambos dispositivos⁴⁸:

- Ecoendoscopia radial (Figura 3): Desde la estación gástrica se localiza la vena esplénica que confluyendo en imagen “en palo de golf” con la VMS formarán la porta. El cuerpo pancreático rodeará tales estructuras. Podremos reconocer una pequeña estructura tubular e hipoeoica superior a la vena esplénica, que es el conducto pancreático principal. Una vez valorado dos movimientos: giro axial a la derecha y retirada nos mostrará la cola pancreática, el riñón izquierdo y la suprarrenal, y la torsión izquierda y el avance el cuello pancreático, aproximadamente a nivel de la confluencia esplenoportal. Una de las formas de valorar correctamente la cola pancreática es seguir la vena esplénica hasta el hilio esplénico. Desde el bulbo duodenal, posicionando la punta del transductor en el vértice de la rodilla duodenal con el ecoendoscopio en posición larga, es posible localizar la porta, el CPP y vía biliar que confluyen a nivel papilar, y realizar la exploración de la cabeza pancreática. Por último, posicionando el ecoendoscopio en la segunda porción duodenal, se realizará la exploración del proceso uncinado pancreático, cabeza pancreática y desembocadura papilar del colédoco y conducto pancreático principal que confiere imagen de “cabeza de serpiente”. En este punto es posible diferenciar la porción ventral pancreática, más hipoeoica, de la dorsal, más hiperecoica, sin que esto represente patología.

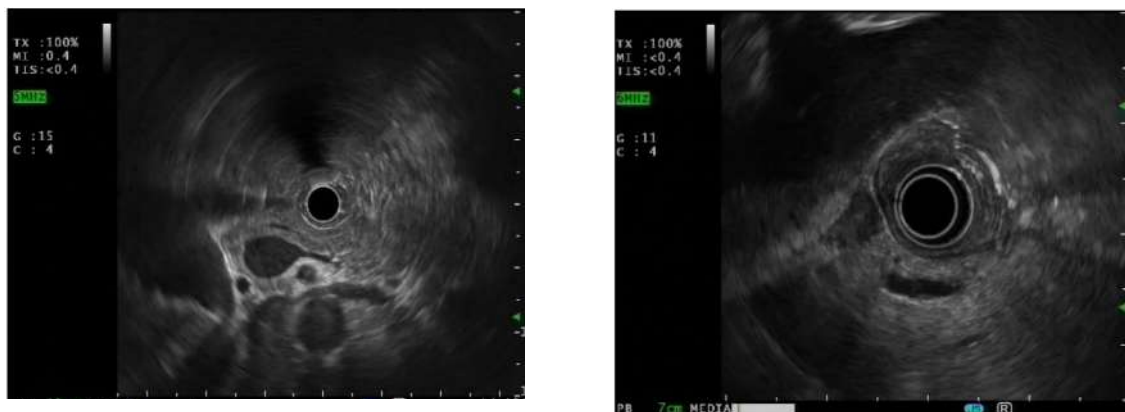


Figura 3: Exploración de la glándula pancreática con ecoendoscopio radial (Cortesía del Dr. Felipe de la Morena López, Unidad de Ecoendoscopia Digestiva). a. Visión de cuerpo y cola pancreáticas y del conducto pancreático principal desde estación gástrica. La vena esplénica en su confluencia con la vena porta forma la imagen en “palo de golf”. b. Visión de la cabeza pancreática, conducto biliar y conducto pancreático principal desde el bulbo duodenal.

- Ecoendoscopio lineal (Figura 4): La exploración de la glándula pancreática se inicia desde la estación gástrica donde veremos el cuerpo pancreático como una estructura triangular, hiperecoica en el adulto, homogénea y regular, delimitada inferiormente por la AMS y superiormente por el celiaco del que apreciaremos la arteria esplénica realizando un giro ascendente situándose por encima de la vena esplénica que se mantendrá en el centro de la glándula en toda su longitud. Realizando un giro hacia la derecha apreciaremos ambos vasos rodeados de cuerpo y cola pancreáticos entrando al hilio esplénico. Paralelo a ambos vasos, en forma de punto hipoeicoico sin pared anterior en la glándula y menor de 2-3 mm podremos apreciar el CPP con un corte transversal en todo el recorrido glandular. Por otra parte, la rotación a la izquierda nos permitirá valorar longitudinalmente la vena esplénica hasta el cuello dónde veremos la confluencia esplenoportal. Un poco más a la izquierda apreciaremos la parte más dorsal del cuello pancreático que ocasionalmente nos permitirá ver el Wirsung longitudinalmente hacia la porción cefálica. Apoyando el extremo del ecoendoscopio en la rodilla duodenal y elevando la punta se localiza la confluencia esplenoportal en la parte inferior estando la cabeza

pancreática entre la pared duodenal y dichas estructuras. Desde segunda porción duodenal, tras realizar la maniobra de rectificación común a todos los dispositivos de visión lateral con lo que se coloca el ecoendoscopio en vía corta, se realiza la exploración del proceso uncinado en cuyo límite inferior se aprecian los vasos mesentéricos, y cabeza pancreática, siendo habitual visualizar la porción ventral de la cabeza pancreática hipoeoica tal y como sucede con el dispositivo radial. En segunda porción duodenal también se explora el área papilar y la desembocadura de los conductos biliar y pancreático a dicho nivel.

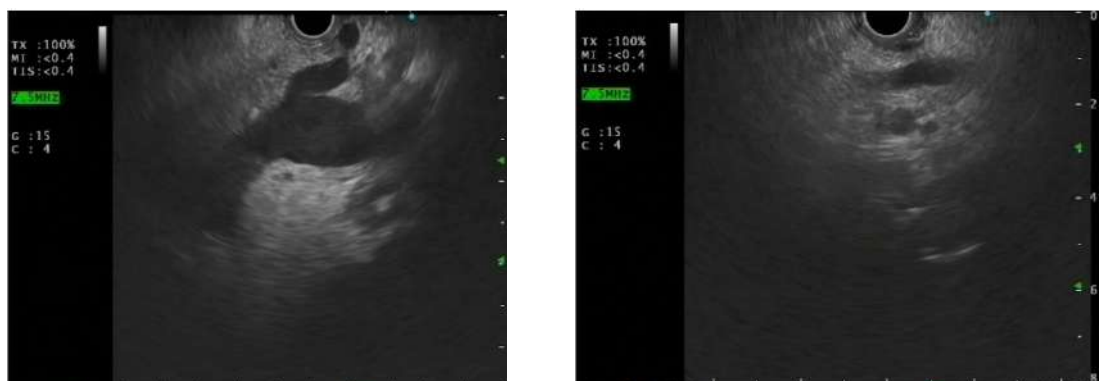


Figura 4: Exploración de la glándula pancreática con ecoendoscopio lineal (Cortesía del Dr. Felipe de la Morena López, Unidad de Ecoendoscopia Digestiva). a. Visión de la confluencia esplenoportal con la vena mesentérica superior y del cuello pancreático desde la estación gástrica. b. Proceso uncinado pancreático, Wirsung prepapilar y vasos mesentéricos visualizados desde segunda porción duodenal.

Existe elevada diversidad en cuanto a los tipos de tumores pancreáticos. Pueden ser sólidos o quísticos, benignos o malignos, y su imagen puede ser muy similar, siendo difícil diferenciarlos, sobre todo en el caso de aquellos tumores de pequeño tamaño.

Comparado con la US, TC y RM abdominal, es la técnica que mayor resolución espacial ofrece y la que mayor sensibilidad diagnóstica tiene para tumores < 2cm, permitiendo detectar lesiones desde 2-3mm de diámetro y evaluar su relación con las estructuras vasculares adyacentes ^{46,49,50}. Su sensibilidad para la detección de adenocarcinomas de pequeño tamaño llega a superar el 95 %, siendo la sensibilidad global cercana al 100% con un valor predictivo negativo del 95%. Por ello, se ha convertido en la exploración de referencia

en casos de diagnóstico dudoso sobre anomalías focales en el páncreas, permitiendo descartar con gran seguridad el diagnóstico de tumor de páncreas en caso de ser negativa. Comparado con la TC, la USE llega a detectar hasta un 13-14% de neoformaciones de páncreas que pasaron desapercibidos en la TC abdominal²⁸.

La TC abdominal ha sido tradicionalmente la prueba de imagen de elección para la estadificación de las neoplasias pancreáticas. El grado de afectación vascular (estadificación T) y la presencia de adenopatías (estadificación N) va a ser un factor determinante para el tipo de tratamiento y el pronóstico⁵¹. Sin embargo, la USE ha demostrado ser superior a la TC en la estadificación locorregional por lo que actualmente es una prueba necesaria tras la realización de TC para la valoración locorregional del cáncer pancreático⁵¹. Ofrece una S y E para detectar afectación vascular del 66-86% y del 89-94% respectivamente, variando en función de la lesión y del vaso concreto. Tiene una S > 80% para la detección de afectación portal, superior a la del TC, mientras que se ha descrito una menor S para la determinación de afectación vascular arterial⁵², por ello actualmente en las guías de práctica clínica se consideran exploraciones complementarias. No obstante, algunos autores como Tellez-Ávila et al ofrecen mejores resultados. Realizaron un estudio prospectivo en el que se comparó la detección de afectación arterial mediante USE y TC obteniendo resultados superiores para la USE, con un valor predictivo positivo (VPP) del 100% vs del 60% para el TC⁵³. En cuanto a la detección de adenopatías locorregionales la USE ha demostrado ser superior al TC con una S 69% y E 81%⁵⁴.

Pero en algunos casos la USE no consigue diferenciar una masa focal benigna de otra maligna y la correcta identificación de adenopatías y ganglios linfáticos puede estar dificultada por cambios inflamatorios asociados al propio tumor. Para su diferenciación es posible apoyarse en los criterios endosonográficos que orientan hacia ganglios linfáticos patológicos (adenopatías): lesiones redondeadas, con bordes bien definidos, hipoecoicas, de más de 1 cm de diámetro. No obstante, no todas las adenopatías malignas presentan todas estas características y a su vez es posible que ganglios inflamatorios presenten alguna de ellas por lo que en ocasiones es necesario recurrir a la punción de las mismas con la que se consigue aumentar la precisión diagnóstica hasta el 85%⁵⁵.

En cuanto a las lesiones quísticas del páncreas, **la USE permite valorar la presencia**

de nódulos o engrosamiento murales, septos, tamaño, número de quistes y la presencia de comunicación con el conducto pancreático principal, así como la dilatación o engrosamiento de este último. Además, es una herramienta que ayuda a detectar lesiones quísticas neoplásicas. En el estudio de Khasab et al tomaron como muestra 154 quistes resecados quirúrgicamente, a los que previamente se había realizado USE, TC y RM, y concluyeron que la USE es superior para la diferenciación entre lesiones quísticas neoplásicas (adenocarcinoma pancreático, tumor neuroendocrino, NQM, TPML y la neoplasia sólida pseudopapilar) de las no neoplásicas o de bajo riesgo (pseudoquistes y neoplasia serosa quística o NQS), obteniendo una S para la detección de lesiones neoplásicas del 76% para EUS, 48% para el TC y 34% para la RM¹⁶.

Algunas características endosonográficas de los quistes pancreáticos se han asociado con riesgo de malignidad como son el tamaño mayor a 3 cm, la presencia de componente sólido (nódulos intramurales o masas), el engrosamiento mural, la dilatación del CPP, un cambio abrupto en el calibre del Wirsung con atrofia distal de la glándula pancreática o la presencia de linfadenopatías^{2,4,56,57}. Sedlack et al realizaron un estudio en el que seleccionaron a 34 pacientes con lesiones quísticas pancreáticas en los que se había realizado USE previo a ser intervenidos quirúrgicamente con la finalidad de definir aquellas características endosonográficas que pudiesen diferenciar las lesiones quísticas pancreáticas benignas de las malignas⁵⁸. En 18 de los 34 pacientes incluidos realizaron PAAF por tratarse de lesiones cuyo riesgo de malignidad no había sido aclarado mediante las características endosonográficas o en aquellos casos en los que se solicitaba expresamente por su médico peticionario. El líquido fue enviado para análisis citológico y en 11 de los casos fue suficiente para adicionalmente medir los niveles de CEA, estableciéndose en este estudio 50ng/ml como punto de corte. Consideraron como malignos/potencialmente malignos aquellos con uno o más de los siguientes criterios endosonográficos: quistes con grosor mural ≥ 3 mm, macroseptos (compartimentos >10 mm), la presencia de masa o crecimiento intramural y la dilatación del CPP, siendo el diagnóstico definitivo (maligno/potencialmente maligno) definido por el resultado del análisis histopatológico de la pieza quirúrgica. Para la detección de aquellas lesiones malignas/potencialmente malignas obtuvieron unos valores de S, E y precisión del

91%, 60% y 82% con los criterios morfológicos por USE, 27%, 100% y 55% con el análisis citológico y del 27%, 28% y 25% con los niveles de CEA respectivamente, concluyendo que con el empleo de estos criterios morfológicos se obtiene una elevada S para la detección preoperatoria de aquellas lesiones malignas/potencialmente malignas.

No obstante estudios recientes subrayan que **las características endosonográficas en las lesiones quísticas pancreáticas no son suficientes como predictor individual de malignidad**^{59,60}. La distinción entre nódulos epiteliales o neoplásicos, caracterizados por tener bordes irregulares y centro hiperecogénico, de aquellos mucosos, con bordes lisos y halo hiperecogénico que rodea al centro hipoecóico, tiene un papel importante para estratificar adecuadamente las lesiones^{7,61}. Para ayudar a diferenciarlos va a ser de utilidad el empleo de ecopotenciadores siendo los nódulos epiteliales vasculares y aquellos mucosos avasculares tal y como se expone en el apartado de ecoendoscopia con contraste⁶².

La diferenciación entre lesiones quísticas pancreáticas de estirpe mucinosa y no mucinosa tiene especial importancia debido a que las primeras tienen riesgo de degeneración e incluso pueden presentar malignidad en el momento de su diagnóstico. En un estudio multicéntrico llevado a cabo por Brugge et al analizaron las características endosonográficas, la citología y marcadores moleculares (CEA con 192ng/ml como punto de corte, CA 72-4, CA 125, CA 19-9 y CA 15-3) con la finalidad de determinar el método más preciso para la diferenciación entre lesiones quísticas mucinosas y no mucinosas⁵⁹. Incluyeron 341 pacientes con lesiones quísticas pancreáticas que fueron sometidos a USE-PAAF, de los cuales 112 fueron sometidos a cirugía disponiendo por tanto de análisis histológico. Las características endosonográficas que relacionaron en este estudio con lesiones de estirpe mucinosa fueron la presencia de lesión macroquística o de masa adyacente. Como resultado encontraron que los hallazgos morfológicos por USE de forma aislada tenían una S 56%, una E 45% y una precisión del 51% para diferenciar quistes mucinosos de no mucinosos, mientras que unos niveles de CEA > 192ng/ml y citología ofrecían una S 75% y 34,5%, E 83,6% y 83,3% y precisión del 79,2% y 58,7% respectivamente, concluyendo que los niveles de CEA ofrecen una mayor precisión diagnóstica que los criterios morfológicos empleados y que el análisis citológico.

Aunque el diagnóstico inicial se realiza mediante la combinación de la clínica y de los estudios radiológicos, la USE puede añadir información valiosa en las lesiones quísticas indeterminadas y orientar el diagnóstico según las características endosonográficas. Además, para aumentar la S y E de esta técnica hoy en día se puede realizar punción y análisis del líquido (bioquímica, estudio molecular y citología) y emplear ecopotenciadores como se ha comentado previamente.

Las limitaciones de la USE se van a relacionar con la presencia de estenosis pilórica o duodenal, antecedentes de cirugía gastrointestinal previa, o con lesiones de gran tamaño que sobrepasan el campo de visión de visión del ecoendoscopio. Además, al igual que ocurre con otras técnicas de imagen, la presencia de pancreatitis crónica puede dificultar la valoración de la glándula pancreática^{28,49}. Tradicionalmente se ha considerado que la colocación de una prótesis biliar puede interferir con la estadificación mediante USE por lo que se recomendaba realizar USE previo a la CPRE, no obstante, estudios recientes sugieren que la precisión de la estadificación por USE podría no verse afectada por la presencia de una prótesis biliar⁶³.

Otro de los factores limitantes es que se trata de una técnica operador dependiente, siendo necesario una adecuada formación además de evaluación continua para identificar y mejorar resultados. Asimismo, la concordancia interobservador para las características endosonográficas de las lesiones quísticas es baja, con una escasa concordancia para la definición del tipo de quiste (κ 0,31)⁶⁴. El estudio de Jong et al tuvo como objetivo valorar la concordancia interobservador en la caracterización morfológica de quistes pancreáticos y realizaron 3 grupos según la experiencia de los observadores⁶⁵. Se seleccionaron 40 pacientes cuya USE fue grabada para posterior valoración por los endoscopistas, disponiendo en 28 de los casos de diagnóstico histológico. Valoraron la presencia de septos, nódulos, componente sólido y la comunicación con el Wirsung, así como el tipo de quiste. En cuanto a la valoración del tipo de quiste según las características morfológicas obtuvieron un coeficiente de correlación intraclase del 0,43 para endoscopistas expertos, 0,09 para aquellos semi-expertos y del 0,30 para nóveles (médicos residentes), concluyendo que la concordancia interobservador es mayor entre endoscopistas expertos; no obstante, incluso en ese subgrupo la concordancia fue moderada⁶⁵.

La USE es una técnica que se realiza bajo sedación profunda y que tiene un bajo riesgo

de complicaciones. El transductor del ecoendoscopio está situado en su extremo distal, dejando un segmento por tanto rígido de unos 4 cm de longitud. Además, la visión es oblicua algo similar a la del duodenoscopio, por lo que su introducción por el tracto digestivo, sobre todo a nivel del esófago, se realiza con escasa visión endoscópica. Esto en teoría se podría correlacionar con el riesgo de perforación, sobre todo a nivel cervical, siendo mayor que en una endoscopia digestiva alta (EDA) convencional. Según los estudios realizados la tasa de perforación se encuentra en torno al 0,03-0,06%^{66,67}. También hay casos descritos de perforación duodenal, sobre todo en casos con neoplasia de páncreas que condicione una fijación del asa duodenal o en pacientes con divertículos duodenales⁶⁸. Se han relacionado con mayor riesgo de perforación la falta de experiencia del explorador, la edad avanzada del paciente y la historia previa de intubación esofágica dificultosa⁶⁹. En un estudio fue más frecuente con el ecoendoscopio radial, aunque esto puede deberse a que en ese momento era el más empleado⁶⁶.

Otras posibles complicaciones serían las propias de la sedación y de la EDA, como son los eventos cardiopulmonares, las infecciones y el sangrado⁷⁰. Las complicaciones cardiopulmonares relacionadas con la sedación representan más del 60% de los efectos adversos y según diferentes estudios su incidencia está entre 1 de cada 170 y 1 de cada 10000 exploraciones⁷⁰, y van desde eventos menores como pueden ser la desaturación o arritmias transitorias, hasta mayores como pueden ser la broncoaspiración, shock o infarto de miocardio. Factores de riesgo predisponentes para su presentación son la enfermedad cardiopulmonar preexistente, la edad avanzada, la clase III o superior de la Sociedad Americana de Anestesiología ($ASA \geq III$), la posición del paciente en prono, y una exploración prolongada^{70,71}. La hipoxemia durante la EDA contribuye a la aparición de arritmias. Se recomienda el empleo de cánulas nasales para la administración de oxígeno a 2 litros por minuto y así minimizar este evento⁷².

La aparición de bacteriemia transitoria durante la EDA se ha descrito hasta en un 8% de las exploraciones según algunos estudios, pero la frecuencia de endocarditis infecciosa y de otras secuelas clínicamente relevantes es extremadamente baja por lo que no se recomienda la profilaxis antibiótica en ausencia de punción o realización de terapéutica⁷⁰. El sangrado clínicamente significativo relacionado con la EDA

diagnóstica es poco frecuente⁷³. Se ha descrito la aparición de Mallory-Weiss en menos del 0,5% de las EDA y raramente se asocia con un sangrado significativo ⁷⁴. Factores relacionados con mayor riesgo de sangrado son la trombopenia importante y la coagulopatía. Algunos autores establecen que la EDA diagnóstica debería realizarse con niveles >20000 plaquetas, y que para la toma de biopsias el paciente debería contar con unas cifras >50000 plaquetas ⁷⁰.

2.2..1. PUNCIÓN-ASPIRACIÓN CON AGUJA FINA GUIADA POR ECOENDOSCOPIA (USE-PAAF)

Para la realización de USE-PAAF es necesario el ecoendoscopio lineal o sectorial, que permite introducir por su canal una aguja, visualizar su trayectoria durante la punción y el empleo de Doppler para identificar la presencia de vasos en su recorrido. Existen agujas de diverso calibre para realizar una PAAF: 19G, 22G y 25G, siendo la primera de mayor diámetro y la última la más fina. Recientemente se han desarrollado agujas de histología que se diferencian de las de citología por el bisel, y que fueron diseñadas para obtener muestras de mayor tamaño o cilindros que permitan realizar un estudio histológico, siendo esto especialmente importante en determinadas patologías como pueden ser ante la sospecha de pancreatitis autoinmune, metástasis, linfoma o de tumores neuroendocrinos ^{45,75}. No obstante, estas agujas de histología no han demostrado beneficio en cuanto a la obtención de una muestra adecuada, S, E, VPP ni en cuanto a la seguridad en comparación con las agujas de citología tradicionales para indicaciones en las que no sea preciso estudio inmunohistoquímico, habiendo tan solo demostrado en algunos estudios disminuir el número de pases necesarios para la obtención de una muestra adecuada⁷⁵.

Para la elección del tamaño de la aguja se tendrá en cuenta el tipo de lesión (quística vs sólida), la localización desde la que se llevará a cabo dicha punción (transduodenal vs transgástrica) y de si se trata de una técnica diagnóstica o intervencionista⁷⁶, sin existir claras diferencias en cuanto al rendimiento diagnóstico ni en la incidencia de eventos adversos⁷⁵.

La aguja lleva incorporado en su interior un estilete que evita la contaminación por células de la pared del tubo digestivo durante el procedimiento de punción.

Una vez la aguja se encuentra dentro de la lesión a estudio se retira el estilete. En el caso de las lesiones quísticas se conecta posteriormente a una jeringa con sistema de vacío para ejercer presión negativa y aspirar el contenido. En las lesiones sólidas también es posible conectar a una jeringa con sistema de vacío para ejercer efecto de succión, aunque en este tipo de lesiones algunos autores prefieren no emplearlo. En lesiones sólidas se realizan unos 10 movimientos de vaivén de la aguja dentro de la lesión mediante la “técnica del abanico” provocando el paso de células a su interior⁷⁷, mientras que en las lesiones quísticas una vez la aguja está en el interior de la lesión se procede a aspirar su contenido, y posteriormente se dirige al componente sólido en caso de estar presente. En ocasiones, como son las lesiones sólidas de páncreas, van a ser necesarios varios pases para la obtención del material necesario, sobretodo en ausencia de patólogo en la sala.

La lesión a estudio debe tener un tamaño de al menos 5 mm y encontrarse en un área de aproximadamente 6 cm alrededor del órgano explorado para situarse en el campo de visión del ecoendoscopio⁷⁸.

Como preparación para el procedimiento se requiere suspensión de los anticoagulantes y una coagulación adecuada. En el caso de las lesiones quísticas pancreáticas se recomienda administrar profilaxis antibiótica⁷ aunque su empleo sistemático cada vez es más controvertido. No se recomienda el empleo de antibioterapia profiláctica para la realización de USE-PAAF de lesiones sólidas pancreáticas debido al bajo riesgo de infección de éstas.

Como ventajas respecto a otras técnicas: permite la visualización directa en tiempo real de la aguja y la lesión susceptible de ser analizada, es más sensible en la detección de lesiones de pequeño tamaño, recorre un trayecto más corto que las guiadas por US o TC para alcanzar la lesión pancreática a estudio e identifica de forma precisa la invasión local de estructuras adyacentes y metástasis del lóbulo hepático izquierdo. No obstante, no puede ser considerada como un método de estadificación completo por la incapacidad de valorar de forma completa el parénquima hepático y estructuras a distancia del transductor por lo que precisa de otras técnicas de imagen adicionales.

Para la punción de lesiones sólidas se recomienda el empleo de agujas de 25G o

de 22G puesto que al ser de menor calibre obtienen una muestra menos hemática y han demostrado necesitar un menor número de pases para llegar al diagnóstico⁷⁹. Las indicaciones universalmente aceptadas de la USE-PAAF en tumores de páncreas son la filiación citológica en lesiones no resecables y el estudio anatomopatológico de aquellas lesiones que no presentan características típicas de un cáncer de páncreas con el fin de confirmar el diagnóstico⁸⁰, aunque cada vez se tiende más a obtener filiación anatomopatológica de las lesiones si ésta puede influir en su decisión terapéutica.

En pacientes con pancreatitis crónica de base, las lesiones inflamatorias son difíciles de diferenciar de tumores malignos tanto por USE como por TC o RM. En estos casos la USE asociada a PAAF ha demostrado aumentar la S (63,3% vs 72,7%) y E (75,9% vs 100%)⁸¹, aunque al igual que ocurre con otras técnicas la S sigue siendo menor en este grupo de pacientes llegando a descender en algunas series al 54%²⁸.

En el caso de las lesiones quísticas no está establecido el tamaño de aguja que debe ser empleado pero un líquido viscoso, como es el caso del mucinoso, puede ser difícil de aspirar con agujas de pequeño calibre. Young et al recomiendan, tras obtener en su centro resultados favorables aplicando su algoritmo, emplear agujas de 19G (tipo flexible si se realiza punción transduodenal para facilitar el acceso desde esta localización, y estándar si es transgástrica) en los quistes mayores a 2 cm puesto que ha demostrado ser más eficiente en para la aspiración completa del contenido del quiste al producirse una menor obstrucción del canal de la aguja por moco de elevada densidad o de detritus, y de 22G en aquellos quistes inferiores a 2 cm⁷⁶. La técnica es similar a la punción de masas sólidas pancreáticas aunque con algunas particularidades: se recomienda aspirar por completo el contenido líquido del quiste siempre que sea posible con el fin de evitar la sobreinfección^{4,7} y se debe intentar realizar la punción en un solo pase de aguja evitando el traumatismo repetido de la pared para evitar complicaciones como la hemorragia⁸².

Dado que ningún test diagnóstico proporciona una S y E próximas al 100% en la evaluación de los quistes pancreáticos, suele ser necesaria la combinación de varios test o determinaciones para realizar una adecuada aproximación

diagnóstica. La USE-PAAF adquiere un papel especialmente relevante cuando existen dudas diagnósticas ya que permite, además del examen morfológico, realizar análisis citológico, bioquímico y molecular del contenido del quiste con la finalidad de determinar si se trata de una lesión de origen inflamatorio o bien de una neoplasia quística, y de orientar hacia la posible presencia de malignidad o riesgo de desarrollarla, como es el caso de los quistes de estirpe mucinosa (TPMI y la NQM) o de la neoplasia sólida pseudopapilar⁸³. En términos generales la utilidad de la USE-PAAF de lesiones quísticas pancreáticas es mayor en quistes con hallazgos que orientan a malignidad ^{84,85}.

La TC y la RM ofrecen una precisión del 61% para diferenciar entre quistes mucinosos de no mucinosos¹⁴, siendo del 50-73% mediante criterios morfológicos por USE ^{59,86}. La USE-PAAF asociada a pruebas de imagen radiológicas ha demostrado ser útil en el diagnóstico de lesiones de estirpe mucinoso⁸⁷. En el estudio de Khashab et al. la USE-PAAF aumentó la precisión para el diagnóstico de quistes neoplásicos añadida al TC o a la RM en un 36% y 54% respectivamente¹⁶.

- ANÁLISIS DEL LÍQUIDO

• VISCOSIDAD

El “string sign” o signo de la cuerda se basa en las características de viscosidad que presentan los quistes mucinosos. Consiste en depositar una pequeña cantidad del líquido obtenido entre el pulgar y el dedo índice del explorador quien posteriormente los separará hasta su disrupción, siendo positivo en caso de presentar una elongación mayor a 1 cm durante al menos un segundo ⁸⁸. Tiene una E del 95% y VPP del 94% para diferenciar entre quistes mucinosos y no mucinosos. Se trata por tanto de una técnica que se podría realizar de forma rápida y que es coste-efectiva ^{57,89}, aunque al ser subjetiva se recomienda combinar con medidas objetivas como son la citología y la tinción de mucinas con azul alcian, tal y como se expone en el siguiente apartado.

• CITOLOGÍA

Consiste en la detección de células características de cada tipo de lesión

como pueden ser células con contenido de mucina (en el caso de las TPMI y NQM), células malignas, células cuboidales ricas en glucógeno (en caso de neoplasia serosa quística), papilas ramificadas con estroma mixoide (en caso de neoplasia sólida pseudopapilar) o la presencia de abundantes células escamosas anucleadas y detritus (en caso de quistes linfoepiteliales)⁸³ (**Tabla 4**).

Existen fundamentalmente dos formas de preparar los extendidos citológicos: secados al aire o fijados en alcohol. Sobre éstos se aplican diferentes tinciones con la finalidad de optimizar los detalles celulares y mejorar el diagnóstico. También pueden emplearse varias técnicas moleculares en la evaluación de un material citológico limitado: reacción en cadena de la polimerasa (PCR), la PCR en tiempo real (qPCR), la secuenciación de Sanger, la hibridación por fluorescencia *in situ* (FISH), y la secuenciación de próxima generación (NGS) con la finalidad de detectar dianas oncológicas y biomarcadores, así como proporcionar valor diagnóstico, terapéutico y pronóstico acerca de cada tumor concreto.

Con el objetivo de reducir los errores de interpretación citológicos y de estandarizar la clasificación de estas lesiones para facilitar la interpretación de los resultados, la Papanicolaou Society of Cytopathology ha propuesto una terminología estandarizada para la nomenclatura de los hallazgos citológicos de lesiones pancreatobiliares ⁹⁰. Proponen un sistema de clasificación en 6 categorías (I-VI) [tabla 1]:

TABLA1:
CLASIFICACIÓN CITOLÓGICA DE LESIONES PANCREATICOBILIARES

I.	No diagnóstica: material insuficiente
II.	Negativo (para malignidad)
III.	Atípico
IV.	Neoplásico: <ul style="list-style-type: none"> a. Benigno: cistoadenoma seroso b. Otros: neoplasias quísticas mucinosas, tumores neuroendocrinos, neoplasias sólidas pseudopapilares.
V.	Sospechoso: ej. Displasia de alto grado
VI.	Positivo (maligna): carcinoma de células acinares, adenocarcinoma ductal, carcinomas neuroendocrinos poco diferenciados, linfomas y metástasis.

Pitman MB, Layfield LJ. Guidelines for pancreaticobiliary cytology from the Papanicolaou Society of Cytopathology: A review. Cancer cytopathology. 2014;122(6):399-411.

La categoría IVa incluye los cistoadenomas serosos mientras que la categoría IVb englobaría un grupo amplio de lesiones neoplásicas como son las neoplasias quísticas mucinosas, los tumores neuroendocrinos y las neoplasias sólidas pseudopapilares. No obstante, existen diferencias entre el riesgo de malignidad de estas lesiones por lo que Martin AK et al proponen modificar esta clasificación dividiendo la categoría IVb en IVb1 (neoplásicos: neoplasias mucinosas) y IVb2 (neoplásicos: neoplasias no mucinosas)⁹¹.

La citología en el diagnóstico de lesiones quísticas ofrece un bajo rendimiento diagnóstico, sobre todo en ausencia de componente sólido debido a la obtención frecuente de una muestra acelular o paucicelular⁸³, siendo la S < 50% en quistes mucinosos¹⁷. Sin embargo, dado que la E es elevada (> 90%) es de gran utilidad cuando nos proporciona un diagnóstico específico o detecta malignidad^{4,87,92,93}.

Para aumentar la S de la citología se han intentado desarrollar diferentes técnicas. Es posible dirigir la aguja de aspiración a la pared del quiste una vez colapsado con la finalidad de obtener muestras para citología con

mayor cantidad de material. Se trata de una práctica segura que ha demostrado aumentar el rendimiento diagnóstico en el caso de tumores mucinosos entre un 29-37%^{94,95}. Incluso algunos autores han descrito que la biopsia de las lesiones quísticas con aguja de histología de 22G es técnicamente posible, conlleva una baja tasa de complicaciones (3,3%) que además fueron leves (hemorragia intraquística autolimitada, fiebre), y permite conseguir mejores resultados, obteniendo muestras adecuadas para análisis cito-histológico en un 65% de los quistes y hasta del 94% en aquellos con componente sólido y un 100% en aquellos con malignidad⁹⁶.

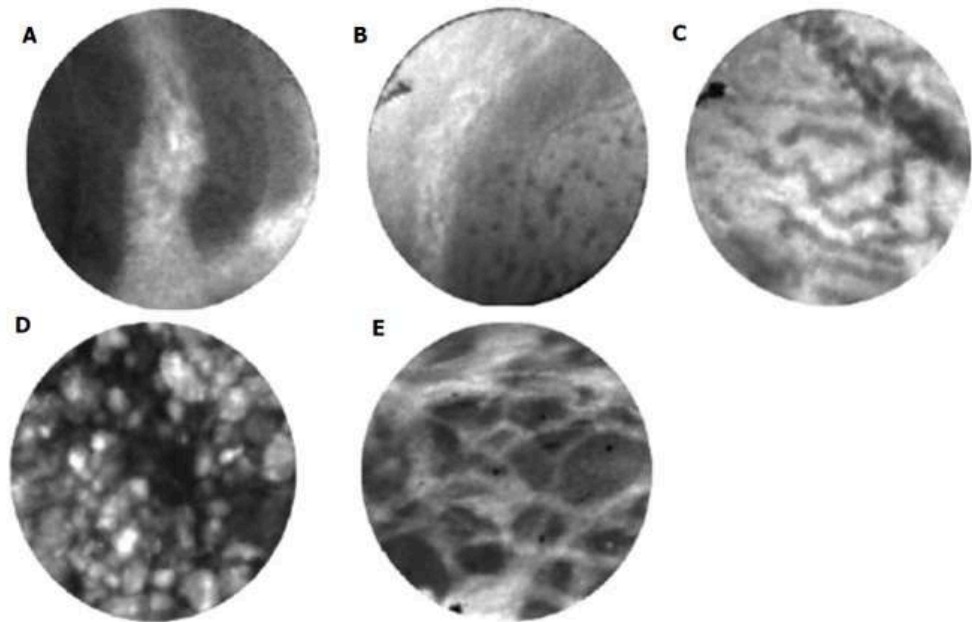
Con la finalidad de aumentar el rendimiento diagnóstico de la citología también se han desarrollado diferentes dispositivos:

- El **EchoBrush™** (Cook Medical®) es un cepillo de citología que se introduce por el interior de agujas de 19G. En ocasiones no es posible llevar a cabo la punción con aguja de 19G por la posición del ecoendoscopio (ej: cabeza pancreática) o avanzar el cepillo a través de la aguja⁹⁷. Su papel en el diagnóstico de NQPs y sus complicaciones asociadas se han evaluado en varios estudios con resultados positivos y negativos, aunque las diferencias metodológicas podrían explicar dichas discrepancias. Autores como Sendino⁹⁸ y Al-Haddad⁹⁹ aspiran el contenido del quiste antes de llevar a cabo el cepillado, buscando un mayor contacto del cepillo con las paredes del quiste. En estos estudios los autores demostraron una superioridad en el diagnóstico de neoplasias quísticas mucinosas en comparación con la citología por USE-PAAF, no obstante, las complicaciones eran mayores llegando a ascender hasta el 10% asociando en un caso la muerte⁹⁸. Otros autores como Thomas¹⁰⁰ y Lariño-Noia⁹⁷ realizaron cepillado de la pared del quiste mediante movimientos de avance y retirada sin realizar previamente aspiración de su contenido, no demostrando mejoría en el rendimiento diagnóstico aunque tampoco asociaron mayores complicaciones. Debido a que se asocia a un aumento de efectos adversos potencialmente graves y a que no ha demostrado claramente aumentar el rendimiento de la citología actualmente no se

recomienda su empleo en el diagnóstico de NQPs ^{7,20,83}.

- La **endomicroscopía láser confocal (CLE)** es una nueva tecnología que, mediante la introducción de la sonda de fibra óptica de 0,85mm a través de una aguja de 19G y el empleo de fluoresceína, permite realizar un análisis histológico (biopsia óptica) en tiempo real del interior de la pared del quiste. Dichas sondas consiguen una imagen con una resolución de 1 a 2 micras (μm) en un campo de visión de 500 a 700 μm aproximadamente, permitiendo valorar la mucosa y su patrón vascular. Típicamente en los TPML se aprecian proyecciones papilares, en las NQM patrón plano en mosaico con bordes epiteliales, en las NQS vascularización superficial siendo posible incluso apreciar el movimiento de los hematíes en su interior, en los pseudoquistes partículas brillantes sobre un fondo oscuro y en los tumores neuroendocrinos quísticos y neoplasias sólidas pseudopapilares nidos de células oscuras separadas por vasos o tractos fibrosos dando un aspecto trabecular¹⁰¹ (**figura 5**). Aunque la interpretación de las imágenes es compleja y requiere una formación y entrenamiento adecuados, hay estudios que han demostrado elevada precisión diagnóstica ¹⁰². En el estudio INSPECT¹⁰³ encontraron una S 59% y E 100% y en el DETECT¹⁰⁴ una S 80% y E 100% para la detección de quistes mucinosos. No obstante, su empleo se ha asociado a complicaciones relativamente frecuentes (3-6,6%) como pancreatitis y hemorragia intraquística ^{20,104}. Para intentar disminuirlas se ha propuesto limitar la duración de esta técnica a 4 minutos. Como principales limitaciones de esta técnica son el coste del dispositivo, la escasa disponibilidad, la mayor duración del procedimiento, la imposibilidad de obtener una imagen adecuada en algunas situaciones y que no es óptimo para la detección de malignidad ya que solo valora una pequeña superficie del interior del quiste.

FIGURA 5: Hallazgos mediante endomicroscopia láser confocal en lesiones quísticas pancreáticas



A: papilas en tumor mucinoso papilar intraductal. B: bandas epiteliales en neoplasia quística mucinosa. C: vascularización superficial en hojas de helecho en neoplasia quística serosa. D: partículas brillantes sobre fondo oscuro en pseudoquiste. E: patrón trabecular en neoplasia neuroendocrina.
Li F, Malli A, Cruz-Monserrate Z, Conwell DL, Krishna SG. Confocal endomicroscopy and cyst fluid molecular analysis: Comprehensive evaluation of pancreatic cysts. *World Journal of Gastrointestinal Endoscopy*. 2018;10(1):1-9

- **Biopsia a través de la aguja de ecoendoscopia:** Consiste en la introducción de una minipinza de biopsia desarrollada con esta finalidad (micropinza de Moray) por el interior de una aguja de 19G para realizar biopsia directa de la pared del quiste¹⁰⁵. Recientemente se han publicado dos estudios en 2018 que comparan la USE-PAAF con análisis del líquido y la toma de biopsias, en los que se obtuvo un elevado éxito técnico (90,4%-100%)^{106,107}. Mittal et al obtuvieron un rendimiento diagnóstico del 88,9%¹⁰⁶. Basal et al concluyen en su estudio que mediante USE-PAAF y biopsia con micropinza el rendimiento diagnóstico para diferenciar mucinoso de no mucinoso era del 47,6% y 61,9%, y para la detección de malignidad del 54,7% y 71,5% respectivamente¹⁰⁷. Además, en ocasiones es posible obtener un diagnóstico histológico específico. No obstante, se trata de una técnica con mayores efectos adversos que la USE-PAAF llegando a ser

del 16%¹⁰⁸, siendo los más frecuentes la hemorragia intraquística que suele ser autolimitada. Como limitaciones se encuentran que tan solo es posible biopsiar un punto de la pared (opuesto al punto de punción) y que por tanto esto puede no ser suficiente para la detección de displasia o de malignidad¹⁰⁵, que la biopsia repetida de la pared puede incrementar el número de complicaciones, la mayor duración del procedimiento y el precio del dispositivo. Es posible que si se dirige la microbiopsia sobre el nódulo mural se obtenga una mayor S y E para la detección de displasia, aunque su utilidad aún no ha sido reflejada en las guías de práctica clínica habituales más recientes. Además, la simple presencia de nódulo mural es criterio de alto riesgo de malignidad y por tanto la cirugía debe ser considerada.

Las mucinas (MUCs) son glicoproteínas que se expresan en las células epiteliales de las neoplasias de estirpe mucinosa, y por tanto pueden ayudar a identificarlas. Estas pueden detectarse mediante tinciones especiales aplicadas a la muestra enviada para citología como la mucicarmina o el azul alcian, o mediante análisis molecular para identificar los diferentes subtipos de estas glicoproteínas⁸³. En el estudio de Morris et al analizaron el líquido obtenido mediante USE-PAAF de 121 pacientes. Determinaron los niveles de CEA, realizaron citología y tinción para mucina, y lo compararon con los resultados del análisis histológico con el objetivo de determinar la capacidad de detección de aquellos quistes de estirpe mucinosa¹⁰⁹. Encontraron que la tinción para mucina ofrecía una S del 80% y una E del 40%, siendo su detección complementaria a la realización de citología y niveles de CEA. Si 1 de los 3 parámetros era positivo aumentaba la S a 92% y la E al 52% para la detección de tumores de estirpe mucinosa. En cambio Alhayaf et al obtuvieron mejores resultados¹¹⁰. Además de la citología realizaron tinción para mucinas y compararon los resultados con el diagnóstico histológico de la pieza quirúrgica. Encontraron que en el 93% de los pacientes intervenidos con tinción para mucinas positiva se confirmó el origen mucinoso de las

lesiones con la pieza quirúrgica. En un caso intervenido con mucina negativa el diagnóstico histológico fue de cistoadenoma seroso. En el estudio de Streitz et al obtuvieron una S 95%, E 100%, VPP 100% y VPN 88% para el diagnóstico de neoplasias quísticas mucinosas¹¹¹. Como limitación es posible confundir la mucina o células productoras de mucina de la pared gástrica con las del quiste pancreático ^{20,83}. Algunos autores como los de la WGO Global Guideline publicada en 2019, recomiendan en caso de disponer de suficiente cantidad de fluido, realizar esta determinación¹¹².

Como posibles errores en la interpretación citológica se encuentra la contaminación por mucosa gástrica en punciones transgástricas o la interpretación de células epiteliales reactivas como células malignas. Por ello es importante contar con una anatomopatólogo experto en la interpretación citológica, que sepa identificar adecuadamente una citología normal, reactiva o compatible con malignidad y que relacione los hallazgos con la historia clínica, los hallazgos por imagen y el sitio de punción ⁹¹.

- **BIOQUÍMICA Y MARCADORES TUMORALES**

Debido a la baja S de la citología se recomienda determinar los niveles de amilasa y marcadores tumorales como el CEA para mejorar la identificación de los diferentes subtipos de quistes. Recientemente se ha descrito que la determinación de niveles de glucosa también podría ayudar al diagnóstico de tumores de estirpe mucinosa. En términos generales, el CEA y la glucosa ofrecen mayor utilidad clínica que los niveles de amilasa puesto que contribuyen a diferenciar entre quistes mucinosos y no mucinosos.

- **AMILASA:**

Es un indicador de comunicación con el conducto pancreático. Unos niveles elevados de amilasa orientan a TPML o pseudoquiste⁷, aunque en ocasiones se pueden encontrar niveles elevados en NQM⁸³. En una

revisión de 12 estudios en 2005 en la que se incluyeron a 450 pacientes concluyen que unos niveles inferiores a 250 U/L de amilasa excluyen que la lesión se trate de un pseudoquiste con una E del 98%¹⁷. En el estudio de Ryu et al sobre el análisis del líquido de 78 quistes pancreáticos establecieron como punto de corte para diferenciar pseudoquiste de neoplasias mucinosas unos niveles de amilasa >479 U/L con una S del 73% y E del 98%¹¹³.

Debido a que en algunas NQPs que no presentan comunicación con el CPP se han encontrado valores de amilasa elevados se considera que sus niveles no son clínicamente relevantes en el diagnóstico de las NQPs¹¹⁴.

- **GLUCOSA:**

Recientemente se han publicado estudios en los que encontraron que los quistes de estirpe mucinosa contienen niveles más bajos de glucosa que aquellos no mucinosos¹¹⁵⁻¹¹⁷. En el estudio de Zikos et al evaluaron la utilidad de la glucosa intraquística medida en laboratorio, con tira reactiva y con glucómetro en 65 pacientes intervenidos quirúrgicamente. Estableciendo 50mg/dl como punto de corte para diagnóstico de mucinoso obtuvieron una S 95% y E 57% en la determinación en laboratorio, una S 88% y E 78% con glucómetro y una S 81% y E 74% mediante tira reactiva concluyendo que los niveles de glucosa intraquística son significativamente inferiores en los quistes de estirpe mucinosa independientemente del método de determinación. Además, la combinación de glucosa < 50mg/dl con CEA > 192ng/ml proporcionaba una S 100% pero una E 33%¹¹⁶.

En 2017 Carr et al realizan un estudio en el que incluyeron 153 pacientes con diferentes tipos de quistes pancreáticos, obteniendo líquido por ecoendoscopia o en la pieza quirúrgica, y determinaron CEA y glucosa mediante un glucómetro, estableciendo 50mg/dl como punto de corte¹¹⁵. Como resultado obtuvieron que los niveles de glucosa intraquística proporcionaba una S 92%, una E 87% y una

precisión diagnóstica del 90% para el diagnóstico de quistes mucinosos, mientras que niveles de CEA > 192ng/ml proporcionaban una S 58%, E 96% y precisión del 69%. Combinando CEA y glucosa para identificar quistes de estirpe mucinosa obtuvieron una S 95%, E 85% y precisión del 93%, optimizando así el diagnóstico. Por ello, recomiendan su determinación de forma rutinaria al tratarse además de una medición asociada a un bajo coste adicional y de fácil determinación. No obstante, los niveles de glucosa no se relacionaron con malignidad.

Los niveles bajos de glucosa intraquística se han relacionado por tanto con quistes de estirpe mucinosa, con una precisión diagnóstica similar o superior que el CEA, pero al igual que éste, no identifican aquellos quistes con neoplasia avanzada. Se trata de una determinación coste-efectiva que en un futuro podría tener potencial de complementar o incluso reemplazar al CEA en la identificación de quistes de estirpe mucinosa aunque son necesarios más estudios¹³.

- **CEA:**

Es el marcador tumoral más estudiado y hoy en día el más preciso para el diagnóstico de neoplasia quística mucinosa⁸³. Se necesitan 0,2-1 ml aproximadamente para realizar su determinación.

En un estudio multicéntrico prospectivo llevado a cabo por Brugge et al se comparó la utilidad de los criterios morfológicos por USE, de la citología, CEA y de otros marcadores tumorales (CA 72-4, CA 125, CA 19-9 y CA 15-3) para diferenciar entre lesiones mucinosas y no mucinosas, empleando la histología como el patrón oro⁵⁹. Se realizó USE-PAAF a 341 pacientes con lesiones quísticas pancreáticas de los cuales 95 fueron intervenidos quirúrgicamente y a 17 se les realizó biopsia, obteniéndose por tanto diagnóstico histológico definitivo en 112 de las lesiones. Un 60% de estas lesiones (68 en total) fueron mucinosas y 40 de estas lesiones mucinosas eran malignas o borderline. El empleo exclusivo de criterios morfológicos fue poco

sensible (56%) y específico (45%) para detectar las lesiones mucinosas, con una precisión diagnóstica del 51%. La precisión mediante el empleo de la citología también fue del 51%. En cambio, el empleo de marcadores tumorales resultó ser más útil. Se calculó la S, E, precisión y área bajo la curva ROC para cada marcador tumoral con la finalidad de diferenciar lesiones mucinosas de no mucinosas. [tabla 2]⁵⁹. Entre estos marcadores los niveles de CEA eran los que mayor precisión diagnóstica (79%) ofrecían para la detección de quistes de estirpe mucinosa empleando como punto de corte 192ng/ml seguido de los de CA 72-4 (72% empleando como punto de corte 7ng/ml). Los niveles de CA 19-9 presentaron menor precisión diagnóstica (66% empleando como punto de corte 2900 ng/ml). Ningún otro parámetro ni combinación demostró una mayor utilidad.

Tabla 2: Precisión de los marcadores tumorales para diferenciar quistes mucinosos de no mucinosos

<i>Marcador tumoral</i>	<i>Sensibilidad</i>	<i>Especificidad</i>	<i>Precisión</i>	<i>ROC</i>	<i>Valor p</i>	<i>Punto de corte</i>
CEA	0,73	0,84	0,79	0,7930	<0,01	192
CA 125	0,83	0,37	0,60	0,5910	0,183	9
CA 15-3	0,19	0,94	0,57	0,5011	0,816	121
CA 19-9	0,68	0,62	0,66	0,6654	0,004	2900
CA 72-4	0,80	0,61	0,72	0,7423	0,001	7

ROC, Característica Operativa del Receptor; Punto de corte: el punto de corte óptimo calculado medido en ng/ml. Valor p: significación estadística.

Brugge WR, Lewandrowski K, Lee-Lewandrowski E, Centeno BA, Szydio T, Regan S, et al. Diagnosis of pancreatic cystic neoplasms: a report of the cooperative pancreatic cyst study. *Gastroenterology*. 2004;126(5):1330-6.

Por tanto, los niveles de CEA intraquísticos permiten diferenciar

lesiones mucinosas de no mucinosas aunque el punto de corte óptimo no queda claro. Se han realizado estudios con valores de CEA entre 5-480 ng/ml ^{89,93,118}. **El más empleado es 192 ng/ml.** En el estudio multicéntrico prospectivo previamente descrito en el que se incluyeron 112 quistes con diagnóstico histológico establecieron como punto de corte 192 ng/ml, que es el punto en el que se cruzan las curvas de S y E, obteniendo una S del 73%, una E del 84%, una precisión del 79% y un área bajo la curva ROC del 0,79 para el diagnóstico de tumores mucinosos⁵⁹.

Valores superiores de CEA aumentan la E y disminuyen la S para diagnóstico de mucinoso, pero sus valores no se correlacionan con riesgo de malignidad ^{59,119}. En un estudio encontraron niveles inferiores a 5 ng/ml de CEA en todas aquellas neoplasias serosas quísticas, aunque también en un 7% de las neoplasias mucinosas ¹²⁰. Valores inferiores a 5 ng/ml orientan al diagnóstico de pseudoquiste, NSQ o tumor quístico neuroendocrino con una S del 50% y una E del 95%¹⁷. Se ha descrito que algunos quistes linfopiteliales benignos presentan niveles elevados de CEA en el líquido y contienen células mucinosas por lo que es importante el análisis citopatológico para diferenciar estas lesiones ¹²¹.

Recientemente Nakai et al evaluaron la utilidad de repetir la determinación de CEA durante el seguimiento de los quistes pancreáticos ¹²². Para ello realizaron un estudio retrospectivo en el que se incluyeron 87 pacientes con al menos dos determinaciones de CEA en diferentes momentos del seguimiento. No obtuvieron diferencias estadísticamente significativas en las características por USE ni en el análisis del líquido. El punto de corte para CEA establecido fue de 192 ng/ml. Con la repetición de USE-PAAF un 20% cambiaron de clasificación según CEA sin asociar cambios significativos en hallazgos por USE. Con ello concluyen que la repetición de análisis del líquido revela unos niveles similares de CEA en la mayor parte de los pacientes, con fluctuaciones en el 20% de los casos que califican como

espurias, que sugieren podrían relacionarse con cuantía variable de mucina dentro del mismo quiste. Concluyen que la repetición de USE-PAAF en ausencia de cambios morfológicos durante el seguimiento con el único objetivo de reevaluar los niveles de CEA no está recomendada. **Dado que orientan hacia el tipo de quiste pero no hacia malignidad no se recomienda realizar seriación de sus niveles tras haber realizado el diagnóstico** ¹²³.

- **OTROS MARCADORES TUMORALES:**

En términos generales el CA 19-9 medido en líquido de los quistes es considerado como un marcador de poca utilidad en el diagnóstico de las lesiones quísticas pancreáticas ya que con frecuencia sus niveles se encuentran aumentados en procesos inflamatorios y por tanto no es específico para malignidad ^{124,125}. En el estudio llevado a cabo por Frossard et al se incluyeron 67 pacientes con diagnóstico definitivo histológico tras la cirugía a los que previamente se había realizado USE y USE-PAAF, y concluyeron que niveles de CA 19-9 > 50000 U/ml ofrecen una S del 15% y E del 81% para la diferenciación de lesiones mucinosas de las no mucinosas. Hammel et al realizaron un estudio en el que se incluyeron 130 pacientes con lesiones quísticas pancreáticas establecieron como punto de corte para el diagnóstico de cistoadenoma o cistoadenocarcinoma mucinoso CA 19-9 > 50000 U/ml con el que obtuvieron una S del 72% y una E del 84%¹²⁵, aunque señalan que es importante tener en cuenta que los pseudoquistes e incluso algunos cistoadenomas serosos pueden presentar niveles elevados de CA 19-9. Unos niveles <37 U/ml han demostrado en el estudio de van der Waaij et al ofrecer una S del 19% y una E del 98% para la identificación de pseudoquistes o NQS¹⁷.

A diferencia de los niveles intraquísticos, los niveles séricos elevados de CEA y de CA 19,9 en pacientes intervenidos de quistes mucinosos pancreáticos se han asociado con displasia de alto grado/malignidad¹²⁶. De hecho, en la revisión de la guía de Fukuoka

publicada en 2017 se incluye la elevación de los niveles de CA 19,9 como uno de los hallazgos preocupantes³.

El CA 72-4 podría ser útil para diferenciar quistes de estirpe mucinosa puesto que los valores suelen ser bajos en el caso de pseudoquistes y NQS respecto a los de estirpe mucinosa¹²⁵. Niveles elevados de CA 72-4 se han relacionado con tumores mucinosos y con malignidad⁴⁶. Además, los cistoadenocarcinomas presentan títulos más elevados de CA 72-4 que los cistoadenomas mucinosos benignos^{125,127}. En el estudio multicéntrico llevado a cabo por Brugge et al el CA 72-4, poniendo como punto de corte 7 ng/ml, era el segundo marcador más útil para el diagnóstico de neoplasia quística mucinosa con una S del 68%, una E del 62% y una precisión del 66%⁵⁹. En el estudio de Hammel et al establecieron como punto de corte CA 72-4 > 40ng/ml y obtuvieron una S del 73%, E del 99%, VPP 96% y VPN 84% para la detección de cistoadenomas o cistoadenocarcinomas mucinosos¹²⁵. En otro estudio llevado a cabo por Legger et al en el que analizaron los niveles de CA 72-4 tras la obtención de líquido mediante USE-PAAF de 19 quistes pancreáticos de los que se obtuvo posteriormente diagnóstico histológico mediante biopsia o resección quirúrgica, obtuvieron los siguientes resultados: los cistoadenocarcinomas mucinosos presentaban niveles muy elevados (media 10.027 U/ml, rango 780 - 34.853 U/ml), comparado con los pseudoquistes (media 3,8 U/ml, rango <3 – 5,7 U/ml) y las NQS (media y rango < 3 U/ml)¹²⁷. Los cistoadenomas mucinosos presentaban unos niveles intermedios (media 44,2 U/ml, rango <3 – 137 U/ml).

Otros marcadores (CA 125, CA 15-3) han sido estudiados pero no han demostrado ser lo suficientemente precisos para proporcionar una aproximación diagnóstica adecuada⁷.

- **ADN Y ANÁLISIS MOLECULAR**

La progresión de células pancreáticas ductales normales a células neoplásicas se caracteriza por el acúmulo de alteraciones genéticas incluyendo entre otras mutaciones, delecciones/inserciones y reordenamiento de genes. Debido a la baja precisión diagnóstica mediante el empleo exclusivo de criterios morfológicos, citología y marcadores tumorales para realizar una adecuada clasificación de las NQP y para la detección de displasia de alto grado y de carcinoma invasivo, se ha investigado el análisis del ADN con el fin de diferenciar quistes mucinosos (pre malignos) de aquellos quistes no mucinosos y para detectar malignidad de cara a optimizar el tratamiento de estos pacientes^{83,128}. A pesar del escaso contenido celular del líquido obtenido de los quistes pancreáticos el empleo del análisis molecular ha demostrado ser útil en distintos estudios^{18,19,118,129,130}. Para realizar análisis molecular se necesitan 0,2-0,5 ml de muestra por lo que podría ser de elevada utilidad en aquellos casos en los que la citología no sea diagnóstica^{4,128,131}. Para el análisis molecular se obtiene ADN presente en el líquido de los quistes pancreáticos procedente de la lisis o exfoliación de las células presentes en la pared del quiste¹⁹. Hay autores que han investigado la determinación de miRNA y proteínas (mucinas) habiendo demostrado resultados prometedores, aunque hacen falta más estudios para la recomendación de su uso en la práctica clínica¹³.

Se ha prestado especial atención a aquellas mutaciones que orienten hacia estirpe mucinosa y a mutaciones exclusivas de los diferentes tipos de quistes para su correcta clasificación. En varios estudios se ha encontrado que mutaciones en **KRAS presenta elevada E para el diagnóstico de quistes de estirpe mucinosa, GNAS para TPMI y VHL para quistes de estirpe serosa**^{18,19,123,128,129,132}. Mutaciones en *CTNNB1* en ausencia de otras mutaciones se han descrito en neoplasias sólidas pseudopapilares¹²⁸. Junto con la detección de mutaciones específicas de cada tipo de quiste, el objetivo de muchos estudios es encontrar otras que sean capaces de detectar malignidad dada la baja precisión de los otros

métodos diagnósticos. **Algunas mutaciones como son *TP53*, *PIK3CA*, *CDKN2A*, *PTEN* o pérdida de *SMAD4* se han relacionado con malignidad^{13,19}.**

En diferentes estudios se ha visto como mutaciones presentes en el tejido pancreático tras análisis histopatológico de la pieza quirúrgica también están presentes en el líquido de los quistes pancreáticos, aunque **la cantidad de ADN obtenido en fluido de los quistes en ocasiones no es suficiente y se detecta un menor número de mutaciones^{19,133,134}**. En el estudio de Singui et al en el que incluyeron 642 pacientes con quistes a los que se les realizó USE-PAAF y análisis del líquido encontraron que en 47 pacientes no fue posible realizar el análisis molecular por presentar una cantidad de ADN insuficiente¹⁹. La finalidad es detectar las mutaciones de forma preoperatoria mediante USE-PAAF y análisis del líquido para decidir el mejor tratamiento para cada paciente. Por otro lado, y con la finalidad de detectar lesiones precursoras de cáncer pancreático, se ha investigado la posibilidad de determinar mutaciones que orienten a malignidad en pacientes de alto riesgo en líquido pancreático tras estimulación con secretina, concluyendo que la detección de mutaciones como *TP53* o *SMAD4* que orientan a malignidad podría ayudar a la detección precoz de las lesiones precursoras, no obstante hacen falta más estudios¹³⁵.

Singui et al evaluaron de forma preoperatoria el análisis de mutaciones en el ADN extraído del líquido de quistes pancreáticos y lo relacionaron con el resultado histopatológico¹⁹. Uno de sus objetivos fue comparar la secuenciación mediante el método Sanger con la secuenciación masiva o NGS y encontraron que la S para la detección de mutaciones alélicas de TPMI y NQM era menor con el método Sanger (S 65% vs 89% para detección de mucinoso respectivamente). La NGS permitió detectar con elevada S (89%) y E (100%) neoplasia avanzada si se combinaban mutaciones en *KRAS/GNAS* y alteraciones en *TP54/PIK3CA/PTEN*. Es importante tener en cuenta que, al igual que se ha descrito en estudios previos, no en todos los quistes encontraron suficiente ADN para llevar a cabo el análisis molecular. En concreto, en este estudio encontraron que

un 93% de las muestras fueron válidas para secuenciación por NGS y un 91% de las seleccionadas para secuenciación por método Sanger. La dilatación del conducto pancreático principal, el hallazgo de nódulo mural o la presencia de una citología positiva para malignidad ofrecieron menor S (42%, 32% y 32% respectivamente) y E (74%, 94%, 98% respectivamente) respecto al análisis molecular.

- **MUTACIONES EN *KRAS*:**

La mutación de *KRAS* es una de las primeras que se produce en la carcinogénesis pancreática, encontrándose en > 90% de adenocarcinomas pancreáticos (ACP), ^{13,18,136}. Además se ha demostrado su presencia en quistes de estirpe mucinosa en múltiples estudios por lo que podría ayudar a su identificación, si bien, su presencia no se ha relacionado con malignidad¹¹⁸.

En el estudio de Rockacy et al sobre 134 pacientes en los que realizaron USE-PAAF y análisis molecular del líquido intraquístico, encontraron que la detección de *KRAS* estaba fuertemente asociada a tumores de estirpe mucinosa y la combinación de *KRAS* con la pérdida alélica indicaba malignidad con una E del 96%¹³⁷. En su serie fue posible realizar análisis molecular cuantitativo en 98 (73,1%) de los casos.

La pérdida de heterocigosidad (LOH) alélica se define como el fenómeno por el cual un locus (posición precisa de un gen en un cromosoma) pierde una de las copias de un gen. Cuando la LOH afecta a genes supresores de tumores conlleva un aumento del riesgo de desarrollar un determinado tipo de cáncer, dependiendo del gen perdido o mutado. En concreto, en quistes pancreáticos cuando se asocia a la presencia de mutaciones en *KRAS* se relaciona con riesgo de malignidad con una E del 94-96% pero con una S del 25-37%^{118,131,138}. Por el contrario, en el estudio de Lee et al no encontraron que la detección de mutaciones en *KRAS* y LOH mediante NGS mejorase la detección de quistes malignos respecto al empleo de la guía de la Asociación Internacional de Pancreatología (IAP) del 2012 dada la baja S de dicho análisis¹³⁸. En un estudio prospectivo multicéntrico en el

que se realizó análisis del ADN encontraron que los elementos que se asocian con malignidad son una elevada cantidad de ADN en la muestra obtenida (ratio de densidad óptica >10) y una elevada amplitud de mutaciones¹¹⁸. Además, sus resultados indican que *KRAS* está relacionado con quistes de estirpe mucinosa y que aquellos quistes malignos con citología negativa podrían ser detectados mediante análisis del ADN, por lo que sugieren realizar dicho análisis en casos en los que la citología sea negativa.

En el estudio realizado por Nikiforova et al en el que incluyeron 618 pacientes a los que realizaron USE-PAAF y análisis del líquido, siendo posible realizar análisis molecular en 98% de los mismos, de los que posteriormente seleccionaron aquellos 142 resecados quirúrgicamente. Encontraron que la presencia de *KRAS* tenía una S del 54% y E del 100% para el diagnóstico de quistes de estirpe mucinosa variando la S en función del subtipo de quiste mucinoso, siendo del 67% para TPMI y del 14% para NQM¹³⁹. Las mutaciones de *KRAS* más frecuentes se han detectado en los codones 12 y 13^{18,137}, siendo especialmente frecuentes las siguientes: G12V, G12D y G12R¹⁸.

- MUTACIONES EN *GNAS*:

El análisis de la presencia de mutaciones en *GNAS* ha demostrado utilidad por encontrarse presente en los TPMI, pudiendo por tanto orientar hacia su diagnóstico. La mutación de *KRAS* o de *GNAS* se encontró en el estudio de Wu et al en un 95% de los TPMI¹⁴⁰. Las mutaciones puntuales más frecuentemente detectadas en *GNAS* en el estudio de Jones et al son R201H y R201C¹⁸. A diferencia de los TPMI, las NQM suelen presentar mutaciones en *KRAS* pero no en *GNAS*¹⁴¹.

En el estudio de Amato et al emplearon NGS para la detección de mutaciones presentes en los TPMI intervenidos, tanto en la pieza quirúrgica como en el líquido obtenido de éstos¹³⁴. Encontraron que mutaciones en *KRAS* y/o *GNAS* se encontraban presentes en el 92% de los TPMI, estando mutado *GNAS* en el 79%, *KRAS* en el 50 % y ambos en el

37,5% de los TPML. Mutaciones en *TP53* y *BRAF* tan solo se presentaron en TPML con displasia de alto grado. No obstante, encontraron una menor cantidad de ADN en el líquido obtenido de las NQP, no llegando a ser suficiente en algunas muestras.

- **MUTACIONES EN OTROS GENES:**

RNF43 se encuentra frecuentemente mutado en quistes de estirpe mucinosa habiéndose descrito en un 14-38% de los TPML y hasta en un 35% de las NQM, no habiéndose detectado mutaciones en NQS, neoplasias sólidas pseudopapilares ni en quistes no neoplásicos^{13,128,140}.

Se han descrito mutaciones en *CTNNB1* en la mayor parte de las neoplasias sólidas pseudopapilares¹⁴⁰, en las que al contrario de lo descrito para otros quistes, no es frecuente encontrar otras mutaciones, aunque se han descrito mutaciones en *TP53* y en *PIK3CA*¹³.

Se considera que las NQS pueden presentar mutaciones en *VHL*, pero no en *KRAS* ni *GNAS*¹⁴⁰. En el estudio de Jones et al la detección de *VHL* cambio el diagnóstico inicial de TPML-RL en dos lesiones quísticas por NQS¹⁸.

Mutaciones en *TP53*, *PIK3CA*, *PTEN*, *CDKN2A* y en *SMAD4* se han descrito en TPML con neoplasia avanzada por lo que podrían emplearse como marcadores pronósticos¹³. Según algunos estudios *KRAS*, *GNAS* y *CDKN2A* son mutaciones precoces que se identifican en lesiones mucinosas¹⁸, en cambio, mutaciones en *TP53*, *SMAD4*^{18,134,142}, *PIK3CA* y/o *PTEN*^{15,143,144} se relacionan con lesiones de alto riesgo o invasivas.

Wu et al sugieren que el análisis de 5 genes (*VHL*, *KRAS*, *GNAS*, *CTNNB1* y *RNF43*) podría ayudar a diferenciar entre los diferentes tipos de neoplasias quísticas pancreáticas (TPML, NQM y NQS)¹⁴⁰. En este estudio el 100% de los NQS presentaban mutación en *VHL*, pero no en los otros 4 genes, el 100% de los TPML presentaban mutaciones en *KRAS*, *GNAS* o *RNF43*, pero no en *CTNNB1* ni *VHL*, y finalmente el 100% de las NQM presentaban mutaciones en *KRAS* o *RNF43*, pero no en *GNAS*, *VHL* ni *CTNNB1*. En el caso de la neoplasia sólida pseudopapilar destacó el escaso número de

alteraciones genéticas identificadas, no apareciendo mutaciones en *GNAS*, *KRAS*, *RNF43* ni *VHL*, pero si que se detectaron mutaciones en *CTNNB1* (codones 32, 33, 34 o 37) en el 100% de los casos.

- **POSIBLE IMPACTO EN LA PRÁCTICA CLÍNICA:**

Múltiples autores han evaluado la posibilidad de incorporar el análisis molecular a las características de los estudios de imagen y al análisis del líquido citológico y bioquímico. **Se ha descrito que la combinación de niveles de CEA y el análisis molecular podría aumentar la precisión diagnóstica de ambas determinaciones analizadas individualmente puesto que los niveles de CEA son más sensibles para identificar aquellos quistes de estirpe mucinosa mientras que *KRAS* es poco sensible pero altamente específico^{123,133}.**

En el estudio llevado a cabo por Jones et al se incluyeron 92 quistes pancreáticos de 79 pacientes a los que se realizó USE-PAAF. Se procesó el líquido para análisis citológico, CEA (192ng/ml como punto de corte para mucinoso) y para análisis molecular mediante PCR, y se emitió un diagnóstico morfológico mediante las imágenes radiológicas y por ecoendoscopia, determinándose el papel de éstas para la diferenciación entre lesiones mucinosas (TPMI y NQM) y no mucinosas (NQS y tumor neuroendocrino), y para la detección de malignidad¹⁸. Realizaron determinación de 39 genes relacionados con cáncer mediante PCR. Las mutaciones más frecuentemente detectadas afectaban a *KRAS* (47%), *GNAS* (24%), *VHL* (2%) o *CDKN2A* (6%). Otras menos frecuentes fueron pérdida de *SMAD4* (1%) y mutación de *TP53* (1%). Como resultado obtuvieron que en un 12% de los casos el análisis molecular del líquido cambió el diagnóstico por imagen y, en los casos en los que no lo modificó, sirvió para reafirmar la impresión diagnóstica, especialmente en los casos de TPMI con niveles de CEA < 192ng/ml. Además, también varió el manejo en el 14% de los quistes clasificados como no específicos por imagen (USE e imagen radiológica no concluyentes) al detectar mutación en *KRAS*. Las mutaciones que se relacionaron con displasia de alto grado o neoplasia

invasiva fueron la pérdida de *CDKN2A*, la pérdida de *SMAD4* o la mutación en *TP53*. Con todo ello concluyen que la **NGS tiene impacto sobre el diagnóstico y manejo de las lesiones quísticas pancreáticas al definir, apoyar o modificar el diagnóstico realizado mediante imagen y análisis bioquímico**. Como principales limitaciones en su estudio destacaron que tan sólo disponían de diagnóstico histológico (pieza quirúrgica o biopsia) en el 18% de los casos y que además el seguimiento de los pacientes fue de un máximo de 18 meses.

En otro estudio reciente llevado a cabo por Al-Haddad et al se demuestra que en aquellos casos en los que no se dispone de citología definitiva para malignidad, la “patología molecular integrada” (IMP), es decir, la combinación de análisis molecular junto con las características morfológicas por imagen, la citología y la bioquímica del líquido podrían orientar mejor hacia malignidad (detección de adenocarcinoma) que la Guía Internacional de Consenso sobre el manejo de neoplasias quísticas mucinosas de 2012¹³⁰. Proponen estratificar según el riesgo de malignidad mediante el empleo de IMP. Para ello realizan un estudio retrospectivo multicéntrico en el que se incluyeron 492 pacientes a los que se había realizado IMP y que fueron seguidos durante al menos 23 meses. Dividieron estos pacientes en 4 categorías según IMP [tabla 3]. Las categorías se determinaron mediante el empleo de 4 criterios moleculares: 1) una mutación con alta clonalidad, 2) gran cantidad de ADN de alta calidad, 3) varias mutaciones con baja clonalidad, 4) una mutación con baja clonalidad en un oncogen, y la coexistencia de criterios clínicos de riesgo (quiste > 3cm, crecimiento anual >3mm, dilatación CPP > 1cm, CEA > 1000 ng/ml, citología positiva para displasia de alto grado) y se compararon con los resultados clínicos del seguimiento. Según los resultados del seguimiento se clasificaron en malignos (análisis de la pieza quirúrgica con displasia de alto grado, carcinoma *in situ* o adenocarcinoma, o citología positiva para malignidad no conocida en el momento de la realización de IMP) y benignos.

TABLA 3: 4 CATEGORÍAS EN “PATOLOGÍA MOLECULAR INTEGRADA”

CATEGORÍA DIAGNÓSTICA	CRITERIOS MOLECULARES	CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS
BENIGNO	ADN sin criterios moleculares	No se consideran para este diagnóstico
ESTADÍSTICAMENTE INDOLENTE	ADN con 1 criterio molecular	Ninguna
ESTADÍSTICAMENTE DE ALTO RIESGO (SHR)	ADN con 1 criterio molecular	≥ 1
AGRESIVO	ADN con ≥ 2 criterios moleculares	No se consideran para este diagnóstico

Tabla adaptada. Al-Haddad et al. Endoscopy. 2015

Posteriormente evaluaron la correlación entre el diagnóstico por IMP según su correlación con la evolución clínica. Además, determinaron si según los criterios de Sendai 2012 cumplirían con los criterios para continuar con seguimiento o derivar a cirugía. La precisión, VPN, E y S del IMP para malignidad fue elevada (90%, 97%, 91% y 83% respectivamente), y el VPP fue del 58%. En un 88% de los clasificados según IMP como agresivos y un 47% de los de alto riesgo (SHR) se confirmó malignidad durante el seguimiento. Siguiendo los criterios de Sendai se obtuvo una S y VPN similar al de IMP (91% y 97% respectivamente), pero una menor E, VPP y precisión (46%, 21% y 52% respectivamente). De hecho, la probabilidad de curso benigno durante el seguimiento en aquellos clasificados como benignos o estadísticamente indolentes según IMP pero que cumplían criterios de cirugía según Sendai fue $> 93\%$ por lo que IMP mejora el manejo de estos pacientes, permitiendo un seguimiento en los casos de bajo riesgo y evitando por tanto cirugías innecesarias. Con estos resultados concluyen que un diagnóstico por IMP de benigno o estadísticamente indolente es un predictor fiable de curso benigno y de baja probabilidad de malignización durante al menos una mediana de 3

años de seguimiento, mientras que los SHR y agresivos presentan un mayor riesgo de adenocarcinoma pancreático. Por tanto el empleo de IMP permite limitar las cirugías innecesarias y detectar malignidad con mayor precisión, mejorando las recomendaciones de manejo de Sendai 2012.

Basados en la asociación de *GNAS* y *KRAS* con quistes de estirpe mucinosa y de *TP53*, *PIK3CA* y *PTEN* con neoplasia avanzada, Singhi et al sugieren un nuevo algoritmo diagnóstico¹⁵. Este algoritmo recomienda realizar USE-PAAF en aquellos quistes > 1,5cm o que presenten componente sólido, dilatación del conducto pancreático principal, síntomas relacionados con el quiste o historia familiar de cáncer de páncreas, y realizar análisis del líquido molecular, bioquímico y citológico. Recomiendan tratamiento quirúrgico en caso de citología positiva para neoplasia maligna, quiste > 3cm con dilatación del CPP o nódulo mural confirmado, o bien detección de *KRAS*/*GNAS* asociada a la presencia de *TP53* Y *PIK3CA*/*PTEN*. Con este abordaje, aunque no se ha comprobado de forma prospectiva, obtuvieron un 100% S, 90% E, 79% VPP y 100% VPN para la detección de neoplasia avanzada.

Sin embargo, otros autores no consideran recomendado realizar análisis molecular de forma sistemática. En el estudio prospectivo realizado por Al-Haddad et al incluyeron 286 pacientes con lesiones quísticas pancreáticas a los que se realizó USE-PAAF y análisis del líquido¹³³. Como criterios moleculares para el diagnóstico de quistes mucinosos definieron: cantidad de ADN $\geq 40\text{ng}/\mu\text{l}$ y/o mutación en *KRAS* y/o ≥ 2 LOH. 48 pacientes (17%) fueron intervenidos quirúrgicamente. En estos pacientes la S, E y precisión para el diagnóstico de quiste mucinoso fue del 50%, 80% y del 56,3% respectivamente. En 9 casos (24%) el análisis molecular proporcionó un diagnóstico consistente con quiste mucinoso al que no se había llegado mediante citología y niveles de CEA. Un 58% de los quistes mucinosos no presentaron mutación en *KRAS*. El análisis molecular clasificó de forma errónea los 2 (100%) quistes mucinosos malignos por ausencia de mutaciones significativas, y clasificó a un quiste seroso y un pseudoquiste como quistes mucinosos. Al comparar el análisis molecular

con la combinación de citología y CEA no encontraron diferencias significativas en la precisión para la clasificación preoperatoria de quistes mucinosos. La concordancia entre análisis molecular y la combinación de citología y CEA fue baja ($k = 0,19$). Encontraron que si se combinaban el análisis citológico, CEA y molecular ofrecía una mayor S (76,3%) para el diagnóstico de quistes de estirpe mucinosa, aunque disminución en la E (60%), llegando a obtener una precisión diagnóstica del 72,9% (distante al 100%). Por ello estos autores concluyen que según los resultados obtenidos no recomiendan realizar análisis molecular de forma sistemática y recomiendan plantear su empleo en los casos en los que la citología no sea diagnóstica y en los que no se obtenga suficiente líquido para determinar los niveles de CEA o estos sean indeterminados (cifras entre 5-192ng/ml).

Recientemente se han llevado a cabo estudios que intentan identificar perfiles genéticos^{18,140,145} para detectar riesgo de malignidad, determinados tipos de tumores o la presencia de displasia de alto grado con el fin de optimizar el manejo de estos pacientes detectando precozmente malignidad y evitando cirugías innecesarias, estando actualmente en evolución y expansión, no obstante se necesita mayor evidencia para incorporar el uso de paneles genéticos en la práctica clínica habitual^{133,141}.

En resumen, según diversos estudios se ha demostrado que existen mutaciones que se asocian con un determinado tipo de quiste y que por tanto podrían ayudar en su adecuada caracterización: los TPML se asocian con mutaciones en *KRAS*, *GNAS* y/o *RNF43*, las NQMs se asocian con mutaciones en *KRAS* y/o *RNF43* pero no en *GNAS*, las NQS pueden presentar mutaciones en *VHL*, las neoplasias sólidas pseudopapilares se caracterizan por mutaciones en *CTNNB1* pero no en *KRAS*, *GNAS*, *RNF43* ni en *VHL*¹³. Además, mutaciones en *TP53*, *PIK3CA*, *PTEN*, *CDKN2A* y/o *SMAD4* son típicas de neoplasia avanzada en el seno de un quiste de estirpe mucinosa por lo que el análisis molecular podría ayudar en la identificación de quistes con presencia de malignidad.

TABLA 4: RESUMEN ANÁLISIS DEL LÍQUIDO EN LESIONES QUÍSTICAS PANCREÁTICAS

	Neoplasias mucinosas (TPMI y NQM)	Neoplasia serosa quística	Neoplasia sólida pseudopapilar	Pseudoquistes
MARCADORES TUMORALES	CEA elevado. Es el más preciso. Punto de corte: 192ng/ml (E 84% y S 75%). No se asocia con malignidad.	CEA bajo. <5ng/ml (E 95% y S 50%)	CEA bajo. No hay punto de corte establecido.	CEA bajo. <5ng/ml (E 95% y S 50%).
CITOLOGÍA	Células columnares ricas en mucina con atipia variable (E <90% y S < 50%)	Células cuboidales ricas en glucógeno (rendimiento diagnóstico <40%)	Papilas ramificadas con estroma mixoide. Si componente sólido aumenta el rendimiento.	No hallazgos típicos. Pueden observarse células inflamatorias y detritus.
MUCINAS	Positivas (E 40%, S 80%). MUC1=invasivo. MUC2 y MUC5A no invasivas.	No hallazgos típicos	No hallazgos típicos	No hallazgos típicos
ADN	KRAS (E 98%)	KRAS no mutado	KRAS no mutado	KRAS no mutado
APARIENCIA Y VISCOSIDAD	Viscoso y claro	Baja viscosidad. Puede ser hemático.	Frecuentemente hemático	Baja viscosidad, coloración marronacea
AMILASA	Variable. TPMI>NQM.	Baja	Baja	Elevada, >250U/L

- ANÁLISIS PROTEICO: MUCINAS

El estudio de mucinas (MUC) también puede ser de interés puesto que se encuentran presentes en quistes de estirpe mucinosa. Existen varios tipos

de mucinas, que se pueden detectar mediante PCR a partir del RNA obtenido del líquido intraquístico tras realizar USE-PAAF, o bien mediante tinciones específicas¹⁴⁶.

- COMPLICACIONES RELACIONADAS CON LA USE-PAAF

Tanto la USE como la USE-PAAF son técnicas diagnósticas y terapéuticas seguras, con una baja tasa de complicaciones en torno al 0-0,2% para la USE(46) y del 0,2-2,7% para la USE-PAAF^{46,68,147}. Dichas complicaciones se pueden dividir en mayores y menores siendo las mayores aquellas que obligan a detener el procedimiento o alteran el curso normal de la ecoendoscopia, que implican tomar medidas terapéuticas o ingreso hospitalario, y las menores aquellas que no interfieren con la técnica y son autolimitadas. También se pueden dividir en las relacionadas con el procedimiento y las que se asocian a la sedación, como se ha descrito anteriormente. La mayoría de las complicaciones relacionadas con la USE-PAAF se resuelve con tratamiento conservador, siendo la mortalidad global de la técnica muy baja (1/1000)⁶⁸.

La PAAF guiada por USE es el procedimiento más seguro y menos agresivo de punción pancreática, con una tasa de complicaciones muy baja, entre el 0-2,7 % según distintas series^{46,147,148}. Las complicaciones están relacionadas con el tipo de lesión y con su localización presentando menor índice de complicaciones la punción de lesiones sólidas que la de lesiones quísticas¹⁴⁹.

Las complicaciones de la USE-PAAF más frecuentes son la infección, la pancreatitis aguda y la hemorragia intraquística⁹¹. La diseminación tumoral es anecdótica, habiéndose descrito tan sólo casos aislados. Se debe al paso de la aguja desde la luz intestinal hasta la lesión maligna con posibilidad teórica de siembra al retirar el dispositivo por contaminación del trayecto recorrido. Hay 3 casos clínicos publicados de siembra tumoral relacionada con esta técnica: uno de cáncer pancreático, otro de melanoma (ambas punciones transgástricas) y otro tras puncionar una adenopatía mediastínica⁶⁹. Además, a diferencia de las técnicas de acceso percutáneo guiadas por ecografía o TC abdominal, en la USE-PAAF el trayecto de punción

suele estar incluido en la pieza quirúrgica (marco duodenal en la cabeza de páncreas) y no se atraviesa el peritoneo durante su realización por lo que el riesgo se minimiza¹⁴⁹.

La pancreatitis aguda es una de las complicaciones más frecuentes, con una incidencia media del 1% de las punciones del páncreas⁶⁸. El riesgo no parece estar determinado por el tipo de lesión (sólida vs quística) ni por el tipo de aguja empleada⁶⁹. En la mayoría de los casos se trata de episodios leves⁶⁹ que se resuelven con tratamiento conservador e ingresos hospitalarios cortos.

La infección es otra complicación poco frecuente^{91,150}. Según estudios recientes la tasa de bacteriemia transitoria se encuentra entre el 0-8% de los procedimientos, similar al de la EDA, y su aparición no se relacionó con síntomas ni signos de infección⁶⁹. Hoy en día debido a esta baja tasa de infección no se recomienda el empleo de profilaxis antibiótica en la USE-PAAF de lesiones sólidas pancreáticas ni en la de ganglios linfáticos⁶⁹. No obstante, la punción de lesiones quísticas podría estar relacionada con un aumento del riesgo de infección por lo que se ha recomendado el empleo de profilaxis antibiótica de modo sistemático⁶⁹, siendo los antibióticos más empleados las fluoroquinolonas^{151,152} (ej: 400mg ciprofloxacino iv seguido de pauta corta de 3-5 días de este mismo antibiótico vía oral) o las cefalosporinas de 3ª generación (ceftriaxona 2g iv)⁶². Debido a la toxicidad sistémica de las quinolonas sobre los músculos, tendones y sistema nervioso central, la Agencia gubernamental de los Estados Unidos responsable de la Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA) recomienda evitar el uso de estos antibióticos como profilaxis antibiótica en casos en los que exista otra alternativa¹⁵³. Hay autores que sugieren el empleo de otros antibióticos como puede ser la administración de una dosis única de piperacilina-tazobactam previo a la punción del quiste pancreático y, en casos de alto riesgo (drenaje de pseudoquiste o necrosectomía pancreática) continuar con un ciclo de amoxicilina-clavulánico vía oral¹⁵⁴. Aunque en una serie de 22 pacientes llevada a cabo por Wiersema et al se obtuvo una tasa de infección del 14%, estudios más recientes como el estudio retrospectivo llevado a cabo por Lee et al con un tamaño muestral de 603 pacientes, de los cuales 60 no

recibieron profilaxis antibiótica, encontraron un solo caso de infección¹⁵⁵. Esto hace que el grado de recomendación para el empleo de antibióticos actualmente sea bajo, y sugiere que es necesaria la realización de estudios prospectivos para actualizar estas recomendaciones⁶⁹.

El sangrado extraluminal suele visualizarse durante la exploración como una pequeña cantidad de líquido libre. La hemorragia intraquística ocurre con una frecuencia del 0-6%⁶⁸ y se puede observar como una pequeña área hiperecoica en el sitio de punción que progresa rápidamente, en cuestión de segundos o minutos, hasta ocupar la mayor parte de la cavidad quística¹⁵⁶. Es una complicación poco frecuente^{7,69}. El sangrado autolimitado intraluminal en el punto de punción es relativamente común, pero la hemorragia significativa definida como aquella que requiere tratamiento endoscópico/quirúrgico, o transfusión es poco frecuente, con una prevalencia < 1%⁶⁸. En el estudio de Kien-Fong Vu evaluaron el riesgo de hemorragia en pacientes en tratamiento con AAS/AINEs, HBPM y en ausencia de estos tratamientos¹⁵⁷. De los 241 procedimientos un 33,3% de los pacientes en tratamiento con HBPM presentaron un evento hemorrágico, frente al 3,7% del grupo control y al 0% del grupo en tratamiento con AAS o AINEs ($p = 0,023$). Estudios cardiológicos confirman el mayor riesgo de sangrado con el empleo de antiagregantes diferentes a AAS⁶⁸. En caso de aparición de hemorragia se debe interrumpir el procedimiento y se recomienda tratamiento antibiótico profiláctico. Para evitar el sangrado del quiste al realizar la punción es posible emplear la ecoendoscopia con contraste o la aplicación de Doppler con la que se detentan los vasos de la pared del quiste evitando así su punción⁸². La punción de lesiones quísticas se considera como un procedimiento de alto riesgo de sangrado por lo que se recomienda suspender los anticoagulantes y antiagregantes previo al procedimiento. En cualquier caso, es importante individualizar. En aquellos pacientes doblemente antiagregados por un *stent* recientemente implantado se recomienda diferir el procedimiento al menos hasta poder mantener exclusivamente ácido acetil salicílico a dosis bajas (100mg/día). En cualquier caso es preferible suspender la antiagregación pero siempre teniendo en

cuenta el riesgo/beneficio individual¹⁵⁸.

Por todo lo previamente expuesto se trata de un procedimiento seguro y que es recomendable realizar en aquellas situaciones en las que aporte información que pueda contribuir en el manejo de las lesiones quísticas pancreáticas.

Para intentar minimizar estas complicaciones se recomienda valorar adecuadamente el riesgo anestésico de cada paciente, descartar la presencia de estenosis esofágica o duodenal, no forzar el ecoendoscopio en el paso a la segunda porción duodenal sobretodo en caso de existir una neoplasia en la cabeza de páncreas, aplicar sistemáticamente el Doppler para valorar la presencia de vascularización en el trayecto de punción, realizar el mínimo número de pases por lesión y en el caso de lesiones quísticas aspirar todo el líquido y colapsar el quiste, emplear profilaxis antibiótica, asegurar una cifra de plaquetas > 50.000 y actividad de protrombina > 50%, suspender previo al procedimiento los anticoagulantes orales, heparina y los antiagregantes diferentes a AAS. El empleo de AAS o AINEs no contraindica la punción⁶⁸.

2.2..2. ECOENDOSCOPIA CON CONTRASTE (USE-CE)

Tanto en la ecografía transabdominal como en la ecoendoscopia, el modo Doppler permite visualizar vasos de gran calibre y de alto flujo, no siendo lo suficientemente sensible para ver aquellos de pequeño calibre y bajo flujo propios de la microcirculación ⁴⁹. Además, es muy sensible a los movimientos tisulares, por lo que en ocasiones se pueden tener dificultades para interpretar la imagen por quedar artefactada⁴⁹.

Debido a estas limitaciones y gracias a los avances tecnológicos se crearon los contrastes ecográficos, para ofrecer información sobre la microvascularización y mejorar la detección y caracterización de lesiones. En 2008 se creó el dispositivo necesario para obtener imágenes en modo armónico (EUS-CEH), mejorando la calidad de la imagen del EUS-CE con modo Doppler ⁴⁹. Ésta se basa en la cancelación o separación de la señal lineal procedente del tejido de la no lineal procedente de las microburbujas ¹⁵⁹.

La USE-CEH ofrece información sobre la microvascularización y el flujo vascular

del tejido normal y de las lesiones a estudio. La imagen va a ser de mayor resolución de contraste que con la USE, la TC o la RM, aunque de menor resolución espacial ¹⁵⁶.

Existen distintos tipos de contrastes ecográficos, pero todos ellos se caracterizan por ser microburbujas de unas 2-5 micras de diámetro compuestas por un núcleo de gas estabilizado por una envoltura, y que son capaces de atravesar la circulación pulmonar tras ser administradas por vía periférica. El tipo de gas y su envoltura le confieren sus propiedades y su comportamiento.

Actualmente se emplean los contrastes de segunda generación puesto que son más estables. Se componen de un gas como puede ser el hexafluoruro de azufre, octafluoropropano o perfluorobutano recubiertos por una capa de fosfolípidos que los estabiliza. Se caracterizan por no difundir al compartimento extravascular, a diferencia de los contrastes empleados en la TC o RM, permaneciendo en el interior de los capilares hasta que el gas se disuelve y es expulsado por el aire espirado¹⁶⁰. Su capa lipídica será filtrada por el riñón y metabolizada por el hígado.

Son seguros, con una incidencia de efectos adversos muy baja ¹⁵⁹. Las reacciones alérgicas son muchos menos frecuentes que con los contrastes empleados en la TC o RM, aunque también han sido descritas^{161,162}. Además, no producen nefrotoxicidad ni tirotoxicidad. No obstante, en 2007, la FDA emitió una advertencia en referencia al empleo de agentes de contraste en ecografía en pacientes con antecedentes de infarto de miocardio agudo, insuficiencia cardíaca descompensada, arritmias ventriculares, insuficiencia respiratoria, enfisema y alteraciones causantes de hipertensión pulmonar basada en un estudio sobre la seguridad de los agentes de contraste utilizados en ecografías de esfuerzo con contraste en 26.400 pacientes en el que se documentaron 190 efectos adversos graves y 4 muertes de causa incierta aunque asociados al uso de contraste¹⁶². Esta alerta fue criticada por tan solo encontrarse relación temporal y por haberse encontrado también mayores efectos adversos con otras técnicas diagnósticas en este tipo de pacientes. Posteriormente, varios estudios con un gran número de pacientes en los que se emplearon dichos contrastes han mostrado unos índices muy bajos de efectos adversos. En un estudio italiano multicéntrico en el que analizaron 23.188 exploraciones en las que se empleó contraste de segunda

generación compuesto por hexafluoruro de azufre para el estudio de lesiones abdominales encontraron que tan sólo el 0,0086% presentaron efectos adversos graves¹⁶³. Además, dicho contraste también se ha empleado en pacientes con enfermedad pulmonar restrictivas sin encontrarse complicaciones importantes¹⁶⁴. Los efectos colaterales, en caso de presentarse, suelen ser leves y transitorios: cefalea, náuseas, vómitos, mareo, sensación de calor y eritema cutáneo¹⁵⁹. En España, la ficha técnica incluye la contraindicación de uso en embarazadas y durante el periodo de lactancia¹⁶⁵.

Varios estudios sugieren que la USE-CE es superior a la TC y que con USE-CEH se puede mejorar la precisión diagnóstica de la USE¹⁶⁶.

Para su realización son necesarios varios pasos consecutivos⁴⁹:

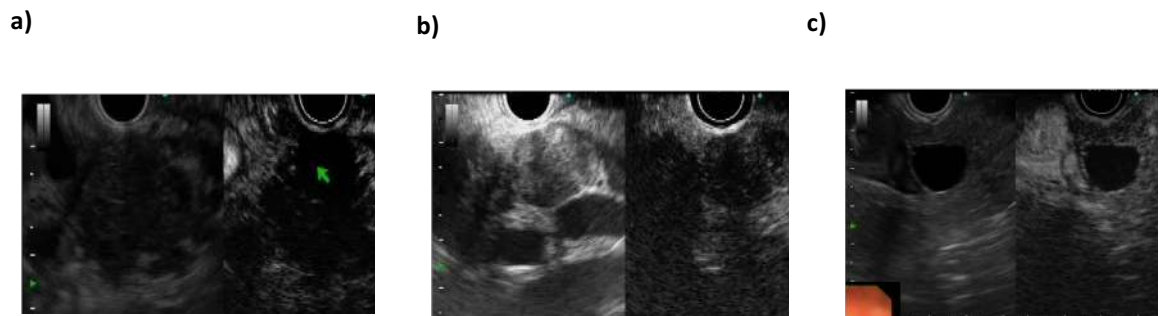
- 1) Canalizar un acceso venoso periférico de gran calibre (16-18G) para evitar la ruptura de las microburbujas, y conectar a una llave de 3 pasos. El CE se introducirá en paralelo a la vía lentamente para evitar la ruptura de las burbujas. Posteriormente se introducirá por el canal dispuesto de modo perpendicular una jeringa con suero fisiológico, para impedir que el CE quede retenido en la vena.
- 2) Tras explorar el área de interés con el modo B se debe cambiar la pantalla a doble imagen de modo que se visualice de modo simultáneo la imagen de la USE en modo B y la USE-CE.
- 3) Seleccionar el Índice Mecánico (IM). El IM de una onda de ultrasonido se define como la amplitud del pico de presión negativa estimada dividido por la raíz cuadrada de la frecuencia. Lo ideal es elegir un IM bajo, típicamente por debajo de 0,40. En casos en los que la lesión se encuentre cerca del transductor (distancia inferior a 2 cm) se podría seleccionar un IM inferior (entre 0,25 y 0,30), aunque cuando la lesión se encuentra más alejada está indicado seleccionar una frecuencia menor (5MHz) y por tanto un mayor IM (entre 0,35 y 0,40). Además, debido a su mayor S, un mayor IM puede ayudar a detectar microvascularización en lesiones poco vascularizadas. Un IM todavía mayor permite la destrucción de burbujas en el área de interés permitiendo optimizar, tras la llegada de nuevas microburbujas, el estudio de la microvascularización.

- 4) Tras fijar los parámetros y tener visualizada el área de interés se inyectará el contraste. Puede tardar 10-20 segundos en visualizarse y comenzar por tanto la fase arterial que durará unos 30-45 segundos. La mayoría de los órganos abdominales, a excepción del hígado, tienen exclusivamente aporte vascular arterial. Se recomienda realizar grabación de la exploración de modo que se pueda revisar posteriormente con detenimiento^{49,167}.

La USE-CE es una técnica que permite optimizar el diagnóstico de las lesiones pancreáticas, sobre todo en aquellos casos en los que la USE-PAAF presenta mayores limitaciones como son las lesiones de pequeño tamaño (menores de 2 cm), en las que es difícil obtener una muestra adecuada, o casos de pancreatitis crónica, donde es difícil diferenciar una posible lesión tumoral del parénquima circundante^{46,165}.

Una de sus principales indicaciones es el despistaje de lesiones pancreáticas y su caracterización incluyendo tamaño, bordes y su relación con los vasos circundantes, definición de los patrones típicos de captación en lesiones sólidas siendo por ejemplo los adenocarcinomas hipovasculares y por tanto hipocaptantes durante todas las fases del estudio, y los tumores neuroendocrinos hipervasculares, por tanto hipercaptantes^{160,165} (**Figura 6**). En los casos de pancreatitis crónica la vascularización es similar a la del parénquima sano pancreático, y las masas asociadas pueden presentar un patrón de captación similar al de masas en parénquima normal, que depende a su vez del grado de inflamación y fibrosis de la lesión⁴⁹.

Figura 6: Evaluación por ecoendoscopia de lesiones pancreáticas tras administración de contraste



Tipos de patrones de captación tras administración de contraste (Cortesía del Dr. Felipe de la Morena López, Unidad de Ecoendoscopia Digestiva): a) Lesión sólida pancreática hipocaptante compatible con adenocarcinoma, b) Lesión sólida pancreática hipercaptante compatible con tumor neuroendocrino, c) Lesión quística pancreática con paredes isocaptantes y centro con ausencia de captación

En el estudio de Sakamoto et al¹⁶⁸ comparan la USE-CE con contraste de primera generación compuesto por micropartículas de galactosa, burbujas de aire y ácido palmítico para el diagnóstico de tumores pancreáticos < 2cm con USE asociado a Doppler y TC con contraste, obteniendo una sensibilidad del 83%, 50% y 11% respectivamente para diferenciar adenocarcinoma ductal de otros tipos de tumores pancreáticos. En otro estudio, Hocke et al¹⁶⁹ evaluaron la capacidad de EUS-CE empleando un agente de segunda generación con burbujas de hexafluoruro de azufre para diferenciar inflamación de adenocarcinoma pancreático en pacientes con pancreatitis crónica basándose en las características de la microvascularización, obteniendo una S del 91% y una E del 93%.

Las prótesis biliares y la pancreatitis crónica son dos claras limitaciones de la USE. Fusaroli et al sugieren que la USE-CE puede jugar un papel importante en superar dichas limitaciones¹⁷⁰. Estos autores pudieron diagnosticar malignidad (adenocarcinoma) en 7 pacientes cuyo parénquima pancreático no había podido ser correctamente evaluado debido a que presentaban pancreatitis crónica de base o una prótesis biliar. No obstante, las características endosonográficas del cáncer de páncreas y de la pancreatitis crónica puede ser similares y por tanto difíciles de diferenciar⁴⁹. En un metanálisis sobre lesiones sólidas pancreáticas en el que se incluyeron 12 estudios con una población total de 1139 pacientes a los que se sometió a CE-USE¹⁷¹ incluyendo casos con cambios morfológicos

secundarios a pancreatitis crónica, que disminuyen las tasas de detección de lesiones, encontraron una S del 94% y una E del 89% para el diagnóstico de adenocarcinoma pancreático.

Aunque la USE-PAAF es el patrón oro para la caracterización de lesiones sólidas pancreáticas detectadas por USE, debido a su bajo VPN, que según algunos estudios se encuentra en torno al 70%, un resultado negativo no permite excluir malignidad¹⁷². La USE-CE permite guiar la EUS-PAAF visualizando simultáneamente la microvascularización de la lesión y dirigiendo la punción⁴⁹. Kitano et al¹⁶⁶ demostraron que con USE-CEH se pueden identificar lesiones menores de 2 cm que con la TC han pasado desapercibidas y que permite una mejor obtención de muestras por USE-PAAF ya que es posible evitar la punción de vasos (muestras hemáticas de baja calidad) y de áreas fibróticas (ausencia de vascularización). En ocasiones existe contraindicación para el empleo de técnicas invasivas (ej: empleo de anticoagulantes). En estas situaciones, la USE-CE va a suponer un método diagnóstico complementario a la USE para una mejor caracterización de lesiones.

Durante USE-CE las estructuras vascularizadas de los tumores quísticos como los tabiques o nódulos van a ser ecogénicas (realzan con el contraste) mientras que el contenido del quiste (moco, detritus...) va a permanecer invisible. Va a ser de utilidad para diferenciar los tumores quísticos de los pseudoquistes, puesto que los últimos presentan ausencia de captación en todas las fases⁶², y para la detección de nódulos murales¹⁷³. No obstante, la USE-CE no permite diferenciar según los estudios previamente realizados entre quistes de estirpe mucinosa y no mucinosa por los patrones de captación de contraste de sus septos y paredes¹⁷³.

La presencia de nódulos murales es uno de los criterios para tomar la decisión de tratamiento quirúrgico en pacientes con TPML o NQM al haberse relacionado con malignidad, por lo que su adecuada detección es importante². **La discriminación entre nódulos murales y detritus o moco mediante TC y la USE no es satisfactoria^{21,174}. La USE-CE ha demostrado en múltiples estudios mejorar la detección de nódulos murales frente a otras pruebas de imagen¹⁷³.** Kitano et al realizaron un estudio en el que incluyeron 19 pacientes con TPML que fueron sometidos a USE-CE detectando en 17 de estos (89% de los pacientes incluidos)

realce tras administración de contraste, siendo este hallazgo un 37% mayor que con el detectado mediante TC abdominal¹⁷⁵. Estos resultados se confirmaron posteriormente en el estudio prospectivo de Yamashita et al en el que realizaron USE-CE a 17 pacientes con TPML y lesiones murales en los que se confirmó que 12 de ellos presentaban nódulos murales. Lo relacionaron con los hallazgos histopatológicos y obtuvieron una sensibilidad, especificidad, VPP, VPN y precisión del 100%, 80%, 92%, 100% y 94% respectivamente¹⁷⁶. En cambio, la TC no detectó 5 de los 12 nódulos murales siendo además 5 de ellos mayores a 10mm de diámetro. En 2016 Kamata et al publicaron un estudio en el que comparan la detección de nódulos murales y de lesiones malignas por USE en modo B y por USE-CEH en 70 pacientes que posteriormente fueron intervenidos quirúrgicamente, no habiéndose realizado USE-PAAF por seguir las guías japonesas ²². Encontraron que la USE convencional en ocasiones confunde acúmulos de mucina o tejido necrótico con nódulos murales y que la USE-CEH frente a la USE en modo B es superior para determinar si la presencia de nódulo mural se asocia con malignidad (respectivamente S 97% vs 97%; E 75% vs 40%; precisión 84 % vs 64 %), además de determinar que los nódulos murales con una altura igual o superior a 4mm detectados con USE-CEH se asociaban con malignidad (OR 56), mientras que si se miden con USE convencional el tamaño debe ser mayor (≥ 8 mm con OR 15).

La USE-CE también va a permitir estadificar tumores biliopancreáticos, sobretudo la extensión local, ayudando a diferenciar la inflamación peritumoral de la invasión vascular con mayor precisión que USE. En el estudio de Imazu et al¹⁷⁷ la USE-CEH fue superior a USE en la definición de la extensión tumoral y de la invasión vascular, con una precisión respectivamente del 92% y 69% respectivamente. En este caso, emplearon como contraste microesferas de perfluorobutano, uno de los contrastes de segunda generación.

A pesar de todo lo previamente descrito la interpretación de imágenes es en parte subjetiva y es necesario un endoscopista entrenado en la realización de esta técnica para una valoración adecuada²⁸.

- **ECOENDOSCOPIA INTRADUCTAL (IDUS)**

Se trata de una técnica basada en el empleo de minisondas de unos 2 mm de diámetro que se pueden pasar a través de un endoscopio convencional e introducir en el interior del conducto biliar o pancreático, aportando información precisa sobre alteraciones a dicho nivel. Debido a la mayor proximidad de la sonda con la pared de dichos conductos es posible usar sondas de mayor frecuencia de tal forma que se obtenga una mejor resolución de imagen que con la USE convencional. A mayor frecuencia (30MHz frente a 20MHz) se podrá valorar mejor las diferentes capas del conducto pancreático. En contra, no permite la toma de muestras. Además, las sondas tienen un elevado coste, son muy frágiles, no están disponibles en todos los centros y presentan dificultad para valorar correctamente los conductos biliares intrahepáticos debido a su baja penetrancia^{178,179}.

En cuanto a la patología de la vía biliar ha demostrado ser útil en la detección de coledocolitiasis o barro biliar cuando no han podido ser diagnosticados por otros métodos como la TC, RM o CPRE ya que detecta con elevada precisión la presencia de coledocolitiasis y las diferencia de la de burbujas de aire, habiendo demostrado una sensibilidad del 95% para ello¹⁷⁹. También es útil en el estudio de estenosis de la vía biliar y ayudar a identificar aquellas de naturaleza maligna cuando el diagnóstico no es claro mediante otras técnicas, ofreciendo una mayor sensibilidad, especificidad y precisión diagnóstica que la CPRE asociada a biopsias transpapilares o la USE^{180,181}. Permite el estudio de la infiltración de las paredes de la vía biliar o pancreática en profundidad y de su extensión intraductal. Además, a diferencia de la CPRE, en la mayor parte de los casos no va a ser preciso la realización de esfinterotomía¹⁸⁰.

En cuanto a los tumores de la papila de Vater la IDUS es la única técnica que permite diferenciar con precisión la musculatura del esfínter de Oddi del resto de las estructuras y describe con exactitud el tamaño y la extensión intraductal con mayor sensibilidad y especificidad que la USE¹⁷⁹.

La introducción de la minisonda a lo largo de todo el conducto pancreático puede ser más compleja debido a su carácter tortuoso, por lo que su porción proximal es la más fácil de valorar¹⁸². Tiene el riesgo de producir pancreatitis aguda secundario al procedimiento, aunque este riesgo no parece ser significativamente mayor que el de la realización de una CPRE¹⁸². Ha demostrado tener una sensibilidad y especificidad

mayores en la valoración de estenosis del conducto pancreático que la de la USE, TC y CPRE, llegando en un estudio a tener una sensibilidad del 100% y especificidad del 92%¹⁸³.

En cuanto a las NQP se sabe que, sobre todo en aquellas de pequeño tamaño, en muchas ocasiones no se consigue llegar al diagnóstico con la TC y RM. La USE y la IDUS ofrecen mejores resultados, incluso parece que la IDUS podría ser más precisa en aquellas NQP que involucran el conducto pancreático principal y sus ramas laterales, identificando de forma más precisa la extensión intraductal aunque por el momento, según la evidencia actual, en las guías del manejo de éstas sólo está indicada la USE^{179,184}.

- **COLEDOCOSCOPIA/PANCREATOSCOPIA**

La coledoscopia es una técnica endoscópica que permite la visualización directa intraluminal de la vía biliar y pancreática. Se trata de un endoscopio ultrafino de fibra óptica que se introduce por el canal de trabajo de un duodenoscopio terapéutico durante la CPRE. Tiene un canal de trabajo de 1,2 mm que permite el paso de minipinzas de biopsia y fibras para realización de litotricia.

La colangiopancreatoscopia también puede realizarse mediante la introducción de un gastroscopio de pequeño calibre, con diámetro de 5-6mm, en pacientes con dilatación de la vía biliar extrahepática¹⁸⁵. Tiene la ventaja de proporcionar una mejor calidad de imagen, la posibilidad de realizar NBI y, al tener un canal de trabajo de mayor calibre, se pueden tomar biopsias de mayor tamaño e introducir sondas para realizar terapéutica con argón plasma.

Permite la visualización circunferencial completa del lumen de las vías biliares a través de la papila y la toma de biopsias dirigidas. Actualmente se emplea para el tratamiento de coledocolitiasis que no pueden ser tratadas mediante CPRE ya que el sistema permite la introducción de una aguja de litotricia, el estudio de estenosis biliares de naturaleza incierta mediante la toma de biopsias bajo visualización directa de la lesión y para determinar la extensión local previo a la cirugía colangiocarcinomas¹⁸⁶.

De modo similar al ser introducido por el conducto pancreático permite evaluar de forma directa estenosis, realizar tratamiento de litiasis intrapancreáticas y determinar

la extensión de TPML y otras neoplasias pancreáticas, además de permitir llevar a cabo un diagnóstico anatomopatológico mediante la toma de biopsias¹⁸⁷. La pancreatoscopia va a estar facilitada en algunos TPML debido a que al aumento del tamaño orificial de la papila⁷. En el estudio de Hara et al obtuvieron una precisión del 88% si se combinaba la pancreatoscopia y la ecoendoscopia intraductal para diferenciar TPML benignas de malignas¹⁸⁴. En los TPML puede determinar si afecta al conducto pancreático principal, su extensión intraductal y si existe presencia de proyecciones intraductales con forma de huevas de pez, proyecciones vellosas o vegetantes que puedan orientar a malignidad¹⁸⁴. La presencia de proyecciones de 3-4mm en la pancreatoscopia de TPML-CP tiene una sensibilidad del 67-100% para malignidad^{184,188}.

Se necesitan más estudios, pero la combinación de IDUS y pancreatoscopia podría mejorar el diagnóstico de la extensión longitudinal y transmural de neoplasias pancreáticas. No obstante, el conducto pancreático es de menor calibre y presenta un recorrido más tortuoso que el colédoco por lo que su exploración a menudo es más dificultosa.

- **COLANGIOPANCREATOGRAFÍA RETRÓGRADA ENDOSCÓPICA (CPRE)**

Raramente va a estar indicada para la evaluación de lesiones pancreáticas, ya sean sólidas o quísticas, debido a que es una técnica invasiva asociada a mayor tasa de complicaciones que la USE y que la USE-PAAF. En cuanto a las neoplasias quísticas puede aportar información en los TPML.

Los TPML de conducto principal pueden presentar salida de material mucinoso por un orificio pancreático entreabierto o “signo de la boca de pez”. Este hallazgo se considera patognomónico de esta entidad, aunque sólo va a estar presente en un 20-55% de los pacientes^{7,189,190}. El hallazgo de una fístula pancreaticoduodenal con salida de material mucinoso orienta a invasión y por tanto a malignidad¹⁹¹.

Mediante la realización de una pancreatografía es posible detectar la presencia de estenosis del conducto pancreático que, en ausencia de causa que lo justifique (como podría ser la pancreatitis crónica) o antecedente de traumatismo pancreático, orienta hacia malignidad¹⁹¹. La comunicación del quiste con el conducto pancreático orienta hacia pseudoquiste o TPML⁷. Además, los defectos de repleción pueden ser debidos a

la presencia de lesiones polipoideas, estenosis, litiasis o material mucoso estando este último caracterizado por su naturaleza transitoria y su movimiento con la inyección de contraste o con el paso de un catéter o guía¹⁹¹.

2.3.CARACTERÍSTICAS DE LAS LESIONES QUÍSTICAS PANCREÁTICAS

- **EPIDEMIOLOGÍA**

Como resultado del aumento de TC y RM abdominales que se realizan actualmente se ha experimentado un incremento en el diagnóstico de quistes pancreáticos, siendo a su vez de menor tamaño, identificándose en un 3% de los TC y hasta un 20% de las RM realizadas por otros motivos^{4,5}. Adicionalmente se detectan de forma incidental hasta en un 9 % de los pacientes sometidos a ecoendoscopia digestiva alta¹⁹². Según un metaanálisis publicado en 2019 en el que se incluyeron 17 estudios con un total de 48.860 pacientes encontraron que la prevalencia de quistes pancreáticos en pacientes asintomáticos para patología pancreática mediante TC, RM o USE era del 8% aunque encontraron una amplia heterogenicidad entre ellos (0,2-45,9%), y que la prevalencia de quistes mucinosos fue del 4,3%, aunque tan solo el 0,7% de estas lesiones mucinosas presentaban datos de malignidad al diagnóstico¹⁹³. Además determinaron que la USE realizada tras TC o RM aumentaba la tasa de quistes no diagnosticados mediante otras técnicas de imagen.

Se calcula que aproximadamente un 70% de los quistes pancreáticos van a ser diagnosticados de forma incidental¹⁹⁴ y hasta el 80% de estas lesiones van a ser < 10 mm^{20,195}. Su frecuencia aumenta con la edad^{6,25}, de hecho, se encuentran presentes en un 10% de pacientes mayores de 70 años que se someten a una exploración abdominal por otros motivos⁷ y en el 24,3% de las autopsias, presentando en un 3,4% de estas últimas carcinoma *in situ*¹⁹⁶.

Recientemente se ha publicado un estudio prospectivo de cohortes poblacional en Polonia en el que se realizó colangioRM a 1077 participantes sanos cuya finalidad fue determinar la prevalencia, incidencia e impacto clínico del hallazgo de quistes pancreáticos⁶. Encontraron que la prevalencia fue del 49,1% y la incidencia tras el seguimiento de 5 años del 12,9%. Llamativamente encontraron que la prevalencia era incluso mayor que en estudios de series de autopsias, aunque el punto de corte de

tamaño establecido en este estudio fue bajo (2 mm). Además, encontraron un aumento en la prevalencia de quistes con la edad y el índice de masa corporal, aunque no se asoció con otros posibles factores de riesgo. Los quistes generalmente fueron de pequeño tamaño, tan solo 26 quistes fueron > 1cm y 3 quistes > 2cm. Ningún paciente presentó cáncer de páncreas ni otras patologías relacionadas con el páncreas a lo largo del seguimiento por lo que los autores sugieren que aquellos quistes hallados de forma incidental < 1cm y estables en el primer control por imagen tras su diagnóstico no reciban seguimiento. Basados en sus resultados tampoco recomiendan realizar un cribado poblacional.

El hallazgo de un quiste pancreático puede generar un elevado grado de preocupación tanto en pacientes como en médicos ya que no siempre se alcanza el diagnóstico de certeza, llevando en ocasiones a la realización de múltiples pruebas, en ocasiones invasivas, que incrementan los costes derivados e incluso llevando a su resección de forma innecesaria⁸.

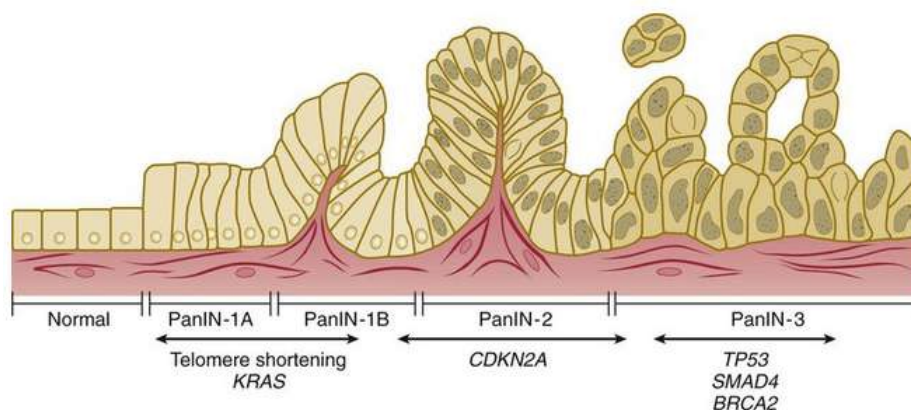
- **FISIOPATOLOGÍA**

El cáncer de páncreas es una de las causas más frecuentes muerte relacionada con cáncer, con mal pronóstico al diagnóstico y con una supervivencia a 5 años <10% si se tienen en cuenta todos los estadios tumorales y del 25% si se consideran sólo aquellas lesiones localizadas¹². Se estima que será la segunda causa de muerte por cancer en EEUU en 2030¹⁹⁷. La mortalidad anual del cáncer de páncreas casi iguala a su morbilidad¹³⁶. Tan sólo un 20-25% de las neoplasias malignas de páncreas van a ser candidatos a tratamiento quirúrgico al diagnóstico y un 80% de estos van a presentar recurrencia a pesar de ser intervenidos por lo que el diagnóstico y tratamiento precoz es fundamental, siendo de gran importancia la identificación de las lesiones precursoras de adenocarcinoma pancreático como son las PanIN y las NQP^{13,198,199}. Las PanIN se dividen en bajo grado (PanIN1A, PanIN1B y PanIN2) y alto grado (PanIN3). Se estima que las PanIN3 requieren una media de 11,7 años para evolucionar a malignidad²⁰⁰ y tardan otros 6,8 años adicionales en desarrollar metástasis²⁰¹, por lo que existe un espacio temporal teórico suficiente para detectar estas lesiones de forma precoz. El problema es que las PanIN son generalmente lesiones demasiado pequeñas (<5 mm) como para ser detectadas por USE o por RM, por lo se están buscando otros métodos para tratar de detectar estas lesiones

precursoras como por ejemplo el análisis del líquido pancreático recogido tras estimulación¹³⁵ o la biopsia líquida¹³⁶.

La progresión de PanIN a adenocarcinoma pancreático (ACP) sigue una secuencia bien caracterizada (**figura 7**), pero en cambio la de los TPMI no es tan conocida. No queda claro si los TPMI aparecen en el páncreas “*de novo*”, si se originan de un PanIN o si ambas opciones son posibles¹⁹⁸. Asimismo, también se desconoce si los TPMI multifocales provienen de la migración de células neoplásicas o si nacen en varios puntos de forma independiente. En la secuencia clásica de evolución de PanIN a ACP, mutaciones en *KRAS* aparecen típicamente desde los estadios iniciales (PanIN de bajo grado). Posteriormente, con la adquisición de otras mutaciones, como *CDKN2A* y *TP53*, estos PanIN progresarán a PanIN de alto grado y a ACP¹⁹⁸.

FIGURA 7: Alteraciones moleculares implicadas de forma secuencial en la progresión a adenocarcinoma pancreático



De izquierda a derecha, epitelio normal que progresa a neoplasia infiltrante con la adquisición progresiva de mutaciones

Mauro LA, Herman JM, Jaffee E, Laheru D. Carcinoma of the Pancreas. In Abelloff's Clinical Oncology: Fifth Edition. Elsevier Inc. 2013. p. 1397-1415.e7 <https://doi.org/10.1016/B978-1-4557-2865-7.00081-3>

El ACP puede aparecer en el páncreas con TPMI de modo asociado/derivado o concomitante. En el estudio realizado recientemente por Omori et al pretenden comprender mejor la biología de los TPMI y su progresión al ACP¹⁹⁹. Para ello incluyeron 30 pacientes intervenidos quirúrgicamente con TPMI y ACP concomitantes en la pieza quirúrgica y otros 10 pacientes con TPMI con DAG pero sin carcinoma invasivo y evaluaron la presencia de lesiones neoplásicas macroscópicas y microscópicas en las

piezas quirúrgicas así como las mutaciones presentes en las mismas. Emplearon las siguientes definiciones histológicas: ACP derivado de TPMP como aquel en contigüidad con DAG de TPMP, ACP concomitante a TPMP como aquel ACP sin continuidad con TPMP o tan solo con DBG de TPMP, e TPMP coexistente como aquel TPMP en las proximidades del ACP, pero sin contacto con el mismo. En función de sus resultados concluyen que hay 3 vías de progresión de TPMP a ACP:

1. Secuencial: El ACP se desarrolla directamente de TPMP y por ello comparten mutaciones denominadas “driver mutations”
2. *Branch-off*: El ACP e TPMP derivan de un clon inicial común (mutaciones iniciales comunes) pero posteriormente cada lesión adquiere sus propias nuevas mutaciones, es decir tienen un origen clonal común (mutaciones idénticas en *KRAS*) pero divergen posteriormente (mutaciones diferentes en *GNAS*)
3. De novo: ACP e TPMP se desarrollan de forma independiente. Los ACP presentan mutaciones no presentes en los TPMP.

Las lesiones quísticas pancreáticas engloban una amplia variedad de lesiones incluyendo lesiones neoplásicas y otras no neoplásicas. En términos generales, el riesgo de malignidad en quistes pancreáticos detectados incidentalmente es bajo y representan un 1-5% del total de neoplasias pancreáticas malignas²⁸. Dentro del grupo de las no neoplásicas la más frecuente es el pseudoquiste y es importante diferenciarlo de aquellas lesiones neoplásicas, como son las NQP, con las que en ocasiones es difícil la diferenciación por criterios morfológicos siendo necesario completar el estudio con el análisis del líquido del interior de los quistes. **La importancia de la correcta identificación de estas lesiones quísticas radica en el potencial de malignidad que presentan algunas de éstas, como son la neoplasia quística pseudopapilar y los quistes de estirpe mucinosa.** En esta categoría se engloban la NQM y los TPMP. Los TPMP pueden ser de conducto principal (TPMP-CP) o de rama lateral (TPMP-RL). Los TPMP-CP se caracterizan por una dilatación segmentaria o difusa del conducto pancreático principal > 5mm sin otras causas de obstrucción. Los TPMP-RL son quistes > 5mm que se comunican con el CPP sin afectarlo. Existe un tipo mixto de TPMP que combina ambas características. Esta clasificación tiene importancia por el diferente pronóstico que presentan, pero es importante destacar que se trata de una definición por hallazgos preoperatorios por imagen, siendo la correlación

histológica del 70%²⁰². Esto puede ser debido, por ejemplo, a que TPML-RL localizadas en la cabeza pueden producir dilatación del CPP debido al aumento de presión ocasionada por la secreción de mucina o a tapones de mucina²⁰³.

- **FACTORES DE RIESGO DE MALIGNIDAD**

No todas las neoplasias mucinosas presentan el mismo riesgo de malignidad. Según publicaciones recientes las NQM presentan un potencial de malignidad que oscila entre el 10-17%^{9,10}, las TPML-CP del 38-68%^{2,9,204}, las TPML-RL del 12-47%^{2,9,205}, del 8-20% para las neoplasias sólidas pseudopapilares y del 6-31% para los tumores neuroendocrinos^{9,206}. En cambio, los quistes serosos, quistes simples y los linfoepiteliales se consideran quistes benignos^{9,206}, aunque en alguna serie se ha reportado algún quiste seroso aislado con progresión a malignidad. La correcta identificación de estas lesiones premalignas va a permitir optimizar el tratamiento y el seguimiento de estos pacientes. Es importante destacar que los quistes detectados de forma incidental son mayoritariamente de naturaleza mucinosa y que tan sólo un 4% de estos quistes asintomáticos son pseudoquistes²⁰⁷. Los quistes epiteliales simples son raros en ausencia de una enfermedad quística sistémica como el síndrome von Hippel-Lindau o la poliquistosis renal.

Factores de riesgo que se han relacionado con cáncer de páncreas son el tabaco, la edad avanzada, pancreatitis crónica, obesidad y los antecedentes familiares de cáncer de páncreas²⁰⁸. Hasta un 5-10% de los cánceres de páncreas tienen un componente hereditario, y el riesgo en familias con cáncer de páncreas familiar aumenta con el número de familiares de primer grado afectados: un familiar de primer grado aumenta el riesgo según el estudio de Klein et al x 4,6, dos familiares x 6,4 y ≥ 3 familiares x 32 veces. No queda claro que exista un aumento de riesgo en pacientes con un antecedente familiar en familias con cáncer de páncreas esporádico²⁰⁹. Otro factor de riesgo, como se ha expuesto previamente, para el desarrollo de cáncer pancreático es la presencia de lesiones premalignas como son los quistes de estirpe mucinosa. Sin embargo, no se ha encontrado un claro aumento del riesgo de desarrollo de cáncer de páncreas en pacientes con TPML que tengan un antecedente de primer grado de cáncer de páncreas respecto a aquellos pacientes sin antecedentes familiares^{208,210,211}. Por ello se sugiere que pacientes con un solo antecedente familiar de primer grado de cáncer de páncreas y

hallazgo de una lesión quística pancreática reciban el mismo tipo de tratamiento y seguimiento que el resto de pacientes con lesiones quísticas pancreáticas.

- **MÉTODOS DIAGNÓSTICOS**

La mayor parte de los quistes se detectan de forma incidental por una prueba de imagen radiológica, que suele ser un TC o una RM. La ColangioRM es la prueba radiológica de elección puesto que permite una mejor valoración de los septos, afectación del conducto pancreático principal y comunicación con el conducto pancreático principal. No obstante, en muchos casos es difícil diferenciar entre los distintos tipos de quistes y el riesgo de malignidad sólo por criterios clínicos y morfológicos puesto que las diferentes lesiones pueden presentar características similares⁹¹. Tanto la RM como el TC pueden identificar metástasis relacionadas con carcinoma invasivo relacionado con TPMI ²⁴.

La precisión diagnóstica de los métodos de imagen para la diferenciación entre lesiones de estirpe mucinoso y no mucinoso es subóptima, siendo para la TC y RM del 61%¹⁴ y del 50-73% con la ecoendoscopia⁸⁶. Las características endosonográficas que se han relacionado con malignidad son el tamaño superior a 3 cm, la presencia de componente sólido, el engrosamiento mural, la dilatación del Wirsung, el cambio abrupto del calibre del Wirsung con atrofia distal de la glándula pancreática y la presencia de linfadenopatías^{2,4}. No obstante, las características endosonográficas no son suficientes como predictor individual de malignidad⁶⁰. De hecho el tamaño > 3cm se asocia a baja sensibilidad y especificidad (74% y 49% respectivamente) para el diagnóstico de neoplasia avanzada¹³, habiéndose descrito malignidad en lesiones de pequeño tamaño¹²⁶.

La ecoendoscopia con punción (USE-PAAF) es una técnica segura que permite realizar el estudio morfológico de la lesión y la punción-aspiración de su contenido. Con el líquido obtenido es posible realizar el estudio citológico, bioquímico y molecular, que permitirá orientar el tipo de quiste y, en el caso de la citología, detectar la presencia de malignidad. **Al permitir optimizar el diagnóstico y por tanto modificar el manejo de estos pacientes la USE-PAAF se ha convertido en la técnica diagnóstica de elección en el diagnóstico de lesiones pancreáticas**¹⁵.

- **RELEVANCIA**

Es importante conocer que **la simple presencia de una neoplasia quística pancreática implica un mayor riesgo de desarrollar cáncer de páncreas que el de la población general**^{11,207}. Se calcula que la incidencia de desarrollo de un adenocarcinoma pancreático concomitante durante el seguimiento de TPMI no resecados está entre el 2-8% mientras que es del 0,5-3,6% en aquellos intervenidos quirúrgicamente, probablemente por la menor cantidad de tejido pancreático remanente¹¹. En un estudio de Munigala et al. en el que se comparó la incidencia de cáncer de páncreas entre pacientes con lesiones quísticas pancreáticas y controles encontraron que el grupo con lesiones quísticas presentaba un riesgo (*hazard ratio*) 19,6 veces mayor, y 18,8 veces si se descartaban aquellos pacientes con historia de pancreatitis aguda o crónica⁵.

Las neoplasias mucinosas tienen potencial de malignización. En un metaanálisis de 17 estudios se evaluó la progresión de las neoplasias mucinosas pancreáticas, cuyo manejo está especialmente en duda, a cáncer de páncreas¹². Definieron TPMI de bajo riesgo como aquellas en las que el conducto pancreático principal no estaba afecto o dilatado (<5mm) y que no presentaban nódulos murales mientras que las de alto riesgo fueron aquellas que presentaban alguna de dichas características. No tuvieron en cuenta el tamaño por no estar especificado en gran parte de los estudios incluidos. Encontraron que las TPMI de bajo riesgo presentaban un riesgo de cáncer de páncreas del 7,8% y las de alto riesgo del 24,7%, con una incidencia anual del 0,65-0,8% y concluyen que dado que el riesgo de desarrollo de cáncer de páncreas se mantiene de forma lineal en el tiempo es necesario continuar con el seguimiento. En esta misma línea en un estudio reciente realizado por Nakai et al e en el que evalúan la incidencia tanto de adenocarcinoma sobre TPMI como de adenocarcinoma concomitante mediante el seguimiento a lo largo de 20 años de 1404 TPMI-RL. Encontraron una incidencia de malignidad del 3,3% a 5 años y del 12% a los 15 años del diagnóstico del TPMI, estando el tamaño del quiste y el diámetro del conducto pancreático principal relacionados con un aumento del riesgo de degeneración maligna del TPMI, pero no con el desarrollo de adenocarcinoma concomitante. Por ello insisten en la importancia de mantener el seguimiento a largo plazo de los TPMI de rama lateral aun en ausencia de criterios morfológicos de riesgo, tanto por el riesgo de degeneración como de adenocarcinoma

concomitante.

La Asociación de Gastroenterología Americana (AGA) publicó una revisión en la que estiman un riesgo de malignidad 0,01% al diagnóstico, del 0,21% de los quistes mayores de 2 cm y del 15% de aquellos resecados quirúrgicamente²¹². En esta establecen que el tamaño superior a 3 cm, la presencia de componente sólido y la dilatación del conducto pancreático principal son factores que se asocian a alto riesgo de malignidad. Además, el riesgo también va a depender del tipo de quiste.

Los quistes de pequeño tamaño, a pesar de tener menor riesgo de malignidad, no están exentos de éste. En un estudio en el que se incluyeron 212 pacientes con quistes pancreáticos intervenidos quirúrgicamente encontraron que el 20% de aquellos con tamaño inferior o igual a 2 cm eran malignos y un 45% adicional presentaban potencial de malignidad, aunque tan sólo el 3,5% de aquellos inferiores a 2 cm y que además eran asintomáticos eran malignos²¹³. Por ello, **la Guía Europea del 2018 recomienda la realización de USE-PAAF en aquellas lesiones quísticas indeterminadas > 1,5cm³⁰ y la Guía de la ESGE del 2017 de aquellas > 10mm²⁰ si el diagnóstico puede modificar el seguimiento o tratamiento del paciente.**

- **ABORDAJE DIAGNÓSTICO. GUÍAS CLÍNICAS**

La aproximación diagnóstica de los quistes pancreáticos está en continua evolución. Su adecuada caracterización es importante puesto que permite evitar cirugías innecesarias, detectar lesiones premalignas e indicar cirugía en estadios precoces y plantear un seguimiento adecuado para cada tipo de lesión.

Ante el hallazgo de un quiste pancreático el primer paso debe ser diferenciar entre pseudoquiste y neoplasia quística mediante la historia clínica y antecedentes de pancreatitis, características por imagen y análisis del líquido. Es importante tener en cuenta que pacientes con neoplasias quísticas pueden presentar pancreatitis y pacientes sin antecedente aparente de pancreatitis aguda pueden presentar pseudoquistes²⁴. El siguiente paso debe ser diferenciar entre neoplasias con potencial de malignizar (mucinosas) de aquellas serosas, y por último determinar aquellas con sospecha de malignidad. Mientras que la cirugía está indicada en casos sintomáticos, aquellos con malignidad o quistes de alto riesgo de malignizar la dificultad radica en detectar correctamente dichos casos. En el caso de los pseudoquistes y las neoplasias quísticas

serosas, el potencial de malignidad es nulo o muy bajo por lo que el tratamiento de estas lesiones quedará reservado a los casos sintomáticos y aquellos en los que existan dudas diagnósticas¹. El seguimiento va a depender del tipo de quiste e implica generalmente la evaluación del tamaño y de la morfología, buscando parámetros precoces que orienten a una posible malignización.

Varios autores informan según estudios realizados que, **en pacientes intervenidos quirúrgicamente de TPML existe riesgo de desarrollar nuevos TPML, de recurrencia de TPML y de desarrollar adenocarcinoma pancreático metacrónico en el páncreas remanente**²¹⁴⁻²¹⁶. En el estudio de Date et al compararon la incidencia de desarrollo de adenocarcinoma pancreático (ACP) en pacientes intervenidos quirúrgicamente por ACP que además presentaban TPML concomitante, aquellos intervenidos por TPML y aquellos con TPML que no se sometieron a tratamiento quirúrgico¹¹. Encontraron que la incidencia de ACP secundario en el grupo intervenido de ACP fue del 17% tras 5 años de seguimiento y del 56% tras 10 años y que esta fue muy superior a la de aquellos pacientes con TPML pudiendo tratarse de recurrencias o de lesiones metacrónicas. En cambio, no encontraron diferencias estadísticamente significativas entre la incidencia de ACP durante el seguimiento de aquellos pacientes intervenidos de TPML y aquellos pacientes con manejo conservador siendo la incidencia a 5 y 10 años del 5% vs 2,2% y del 5% vs 8,7% respectivamente, con una $p = 0,87$. Según los resultados obtenidos el adenocarcinoma pancreático frecuentemente aparece tras 5 años de seguimiento y los pacientes que lo desarrollaron rara vez presentaron cambios en la morfología del TPML. Por todo ello recomiendan mantener el seguimiento a largo plazo (> 5 años).

Empleando parámetros como el tamaño del quiste, la presencia de componente sólido y de afectación del conducto pancreático principal **se han desarrollado numerosas guías para el diagnóstico, seguimiento y tratamiento de estas lesiones**. En 2012 la IAP (International Association of Pancreatology) ² propone la guía de Fukuoka que actualiza las recomendaciones de la guía de Sendai del 2006⁵⁶, y que a su vez vuelve a ser actualizada en 2017³. Por otro lado, en 2013 se publica la Guía Europea sobre neoplasias quísticas pancreáticas¹⁹⁵, publicándose una revisión posterior en 2018. En 2015 se publica la guía de la AGA (American Gastroenterological Association)⁹² que ha sido criticada por varios autores debido principalmente a las restricciones de seguimiento que recomienda. Adicionalmente en 2018 se publica la guía americana ACG (American

College of Gastroenterology)³¹ y por último en 2019 se ha publicado la guía de la WGO (World Gastroenterology Organisation)¹¹². Todas ellas tienen como finalidad identificar aquellos pacientes que se beneficiarían de mayor investigación empleando ecoendoscopia y punción para obtener una muestra para el estudio celular, bioquímico y molecular, aquellos en los que estaría recomendado seguimiento y aquellos en los que se recomienda un tratamiento quirúrgico⁴. Por otro lado, se están llevando a cabo múltiples líneas de investigación que tienen como objetivo aumentar la precisión diagnóstica y optimizar el manejo de los pacientes con neoplasias quísticas pancreáticas.

GUÍA IAP 2012(1) (Figura 8)

En la guía de Sendai de 2006 sobre el manejo de los TPMI y NQM se recomendaba realizar seguimiento por imagen en aquellos quistes menores de 3 cm y resección quirúrgica para aquellos mayores o iguales a 3 cm, aquellos sintomáticos, con estigmas de alto riesgo (dilatación del CPP y/o nódulos murales) o con citología positiva para malignidad⁵⁶. Debido a la baja especificidad para la detección de neoplasia avanzada posteriormente se revisaron dichas recomendaciones y se redactó una nueva guía de práctica clínica que fue publicada en 2012 conocida como “Fukuoka guidelines”². Esta guía de la IAP acerca de lesiones sospechosas de ser NQM o TPMI recomienda realizar USE siempre que se encuentren “hallazgos sospechosos” con la clínica como es la presencia de pancreatitis, o por pruebas de imagen como tamaño mayor o igual a 3 cm, engrosamiento mural con realce, nódulo mural intralesional sin realce, conducto pancreático principal >5mm, cambio abrupto de calibre del Wirsung con atrofia distal de la glándula pancreática o linfadenopatías. La USE tiene como finalidad confirmar la presencia de nódulos, definir las características de afectación del conducto pancreático principal y, en centros especializados con experiencia en USE-PAAF y en interpretación citológica, se recomienda realizar USE-PAAF para análisis del líquido (bioquímico, molecular y citología), prestando especial relevancia a la detección de atipia/malignidad con la citología. En caso de presentar hallazgos sospechosos por ecoendoscopia o citología positiva se recomienda resección quirúrgica. Consideran que la USE es la técnica más precisa para la detección de nódulos murales y de malignidad, mientras que las técnicas de imagen radiológicas (RM, colangioRM y TC) son mejores para definir la morfología, localización, multiplicidad y comunicación con el Wirsung. No recomiendan

realizar USE-PAAF de forma sistemática puesto que ni el análisis bioquímico, citológico ni molecular son lo suficientemente precisos para diferenciar entre los diferentes tipos de quistes ni para detectar malignidad, pudiendo estar asociado a un posible riesgo teórico de siembra. En caso de presentar un CPP $\geq 10\text{mm}$, componente sólido con realce o cuadro de ictericia obstructiva en un paciente con una lesión quística en la cabeza pancreática recomiendan realizar cirugía siempre que el paciente sea buen candidato quirúrgico, al considerar estos tres hallazgos como estigmas de alto riesgo de malignidad. En ausencia de “hallazgos sospechosos” recomiendan seguimiento de los pacientes en función del tamaño de la lesión². Con estas nuevas recomendaciones los autores consiguen aumentar la especificidad para la detección de neoplasia avanzada a cambio de un descenso en la sensibilidad²¹⁷. Existen ciertas dificultades para aplicar las recomendaciones de Sendai y Fukuoka puesto que se refieren sólo a los TPMI y NQM, y no hacen referencia a aquellos quistes que no se engloban en estas categorías¹⁵. No obstante, por el momento la guía de la IAP es la más ampliamente empleada por lo que se describe detenidamente a continuación:

a) Criterios para distinguir TPMI de conducto principal de los de rama lateral:

- El TPMI-CP se caracteriza por la dilatación segmentaria o difusa del conducto pancreático principal de $> 5\text{mm}$ en ausencia de otros datos de obstrucción². Un conducto entre 5-9mm se considera un hallazgo sospechoso mientras que si es $\geq 10\text{mm}$ se considera un estigma de alto riesgo.
- El TPMI-RL se caracteriza por ser un quiste pancreático de $> 5\text{ mm}$ que comunica con el conducto pancreático principal. Su diagnóstico diferencial principal es con los pseudoquistes en pacientes con antecedentes de pancreatitis aguda previa.
- Los TPMI mixtos cumplen criterios de ambos.

b) Definición de TPMI maligno:

Recomiendan abandonar el término de carcinoma *in situ* y emplear displasia de alto grado en su lugar. Se describe como maligno el carcinoma invasivo.

c) Estudio del quiste pancreático:

- Se recomienda la realización de TC o colangioRM en los quistes > 1 cm con la finalidad de encontrar hallazgos sospechosos (tamaño ≥ 3 cm, engrosamiento mural con realce, nódulo intralesional sin realce, conducto pancreático principal > 5mm, cambio abrupto de calibre del Wirsung con atrofia distal de la glándula pancreática o linfadenopatías) o estigmas de alto riesgo (CPP ≥ 10 mm o componente sólido con realce). En los quistes con hallazgos sospechosos se sugiere que sean sometidos a USE, y aquellos con estigmas de alto riesgo se sometan a cirugía.
- El análisis del líquido se considera que todavía está en proceso de investigación, pero podría ser recomendable para la evaluación de TPML-RL de pequeño tamaño sin hallazgos sospechosos en aquellos centros en los que se disponga de un anatomopatólogo experto en realizar citologías procedentes de USE-PAAF.
- La diferenciación de TPML-RL de una neoplasia quística serosa oligoquística es difícil y puede requerir USE-PAAF del quiste con determinación de los niveles de CEA.

d) Indicaciones para la resección quirúrgica:

- Todos los pacientes con TPML-CP.
- Aquellos pacientes con TPML-RL con hallazgos sospechosos o estigmas de alto riesgo. En las TPML-RL > 3cm sin estigmas de alto riesgo se podría realizar observación, sobretodo en pacientes > 65 años o con comorbilidades puesto que el tamaño se asocia en menor medida con malignidad que la presencia de nódulos murales. En pacientes < 65 años sin comorbilidades considerar cirugía si tamaño > 2 cm por el riesgo acumulado de DAG y carcinoma invasivo.
- Se recomienda extirpar todas las NQM siempre que el paciente sea buen candidato quirúrgico debido a que suelen presentarse en pacientes relativamente jóvenes, con localización en cuerpo-cola, y que presentan riesgo de malignizar. En aquellos < 4 cm se podría realizar una resección laparoscópica, resecciones preservadoras del parénquima y

pancreatectomía distal sin esplenectomía.

- Ictericia obstructiva. La pancreatitis aguda es una indicación relativa (alivio sintomático).

e) Métodos de resección y otros tratamientos:

- La pancreatectomía con linfadenectomía sigue siendo el tratamiento estándar para las TPML invasivas y no invasivas. Resecciones focales o segmentarias sin linfadenectomía o esplenectomía pueden ser consideradas en aquellos quistes sin sospecha de malignidad, pero conllevan riesgo de fuga de mucina y una incidencia mayor de fístula pancreática y de recurrencia.
- La etanolización por USE no se puede recomendar en pacientes con TPML-RL o NQM fuera de un proyecto de investigación.
- Los TPML-RL multifocales conllevan un riesgo similar de malignidad que los unifocales. La resección segmentaria se puede realizar para extirpar aquellas de mayor riesgo de malignidad. El umbral para la pancreatectomía total podría descenderse en casos con una fuerte historia familiar de adenocarcinoma pancreático y TPML multifocales, aunque los datos que apoyan esta idea son limitados.

f) Aspectos histológicos:

- Es importante diferenciar entre carcinoma invasivo de tipo coloide, que presenta diferenciación “intestinal” y expresa MUC2 y CDX2, y tubular en la pieza quirúrgica puesto que el de tipo coloide es de mejor pronóstico y en un futuro podría ser de importancia para dirigir el tipo de quimioterapia.
- Recomiendan abandonar el término “carcinoma mínimamente invasivo” y realizar una clasificación según la AJCC/TNM, subclasificando los T1 (T1a $\leq 0,5$ cm; T1b 0,5-1 cm; T1c 1-2 cm).
- Existen 4 subtipos histológicos de TPML según la morfología epitelial y la expresión de mucinas que se relacionan con diferentes grados de malignidad. En una misma lesión pueden coexistir varios tipos

histológicos. Deben describirse en el análisis histológico de la pieza quirúrgica y, si se dispone de material, de forma preoperatoria si es posible:

1. Tipo gástrico
 2. Tipo intestinal
 3. Tipo oncocítico
 4. Tipo pancreaticobiliar
- Es importante confirmar los márgenes de resección puesto que en caso de encontrar displasia de alto grado o carcinoma invasivo será necesario ampliar los bordes de resección. En caso de encontrar PanIN-1 o Pan-IN2 (neoplasia pancreática intraepitelial) no será preciso ampliar dicha resección. Especial atención se debe prestar en caso de encontrar epitelio denudado o inflamación puesto que puede suponer la presencia de un tumor en las inmediaciones.
 - El patólogo debe diferenciar entre adenocarcinoma pancreático que derive de TPML y aquel concomitante a un TPML.

g) Métodos de seguimiento:

- Se recomienda realizar seguimiento de los pacientes con TPML mientras sean candidatos quirúrgicos, aunque hayan sido intervenidos quirúrgicamente ya que tienen riesgo de nuevos TPML, de recurrencia y de desarrollar adenocarcinoma pancreático concomitante, sobre todo aquellos de tipo gástrico y pancreaticobiliar. Algunos autores en Japón realizan seguimiento tras la resección quirúrgica con TC y RM/USE alternas, marcadores tumorales, hemoglobina glicada y exploración física dos veces al año.
- Para el seguimiento de quistes no intervenidos quirúrgicamente sin criterios de alto riesgo se recomienda realizar RM o TC en un corto periodo de tiempo (3-6 meses) para asegurar estabilidad de la lesión si no se dispone de otro control previo por imagen. Posteriormente el seguimiento se realizará en función del tamaño de la lesión y en caso de estabilidad se propone ampliar el intervalo, pero continuar con el

seguimiento por el riesgo de adenocarcinoma pancreático con visita médica, RM (o TC) y marcadores tumorales anualmente. Se debe considerar acortar el intervalo a cada 3-9 meses en aquellos TPMI que desarrollen estigmas de alto riesgo durante el seguimiento, y en aquellos pacientes que por motivos personales o por riesgo quirúrgico se ha decidido manejo conservador inicial.

- Los pacientes con antecedentes familiares de adenocarcinoma pancreático tienen un riesgo aumentado de desarrollar adenocarcinoma pancreático independientemente del hallazgo incidental de lesión quística pancreática. Aquellos con un familiar de primer grado tienen 2,3 veces más riesgo, si tienen dos familiares de primer grado se multiplica por 6,4 y si son tres familiares de primer grado el riesgo se multiplica por 64. Se recomienda el mismo intervalo de seguimiento que la población general en aquellos pacientes con un familiar de primer grado con adenocarcinoma pancreático, pero en aquellos con ≥ 2 familiares de primer grado se recomienda un seguimiento más estrecho: la simple presencia de “hallazgos sospechosos” es más preocupante y se debe considerar cirugía en caso de ser candidato quirúrgico, estando también recomendada la cirugía en aquellos con estigmas de alto riesgo. En su ausencia se recomienda seguimiento con RM/TC cada 3 meses y con USE anual los primeros dos años pudiendo posteriormente ampliar el seguimiento a prueba de imagen anual.
- Las NQM no invasivas no requieren realizar seguimiento tras su resección quirúrgica. En aquellas invasivas se realizará el mismo seguimiento que con los adenocarcinomas pancreáticos.
- Tras la resección de un TPMI el seguimiento se realizará en función del informe anatomopatológico: si los bordes están libres (normales o PanIN-1A ó 1B) se realizará el mismo seguimiento que en aquellos pacientes con TPMI conocido no resecado; si los márgenes son positivos (displasia de grado leve o moderado) se recomienda seguimiento con prueba de imagen cada 6 meses.
- Los TPMI multifocales que permanecen tras la resección deben seguir una

vigilancia similar a los TPML no resecadas. No se debe interrumpir el seguimiento en los TPML debido a que en los primeros 5 años recurren entre 0-20%, y además se han asociado con el desarrollo de adenocarcinoma pancreático. Con los TPML se debe realizar seguimiento tras la cirugía según los márgenes de resección. Si no hay lesión residual (tejido pancreático normal o metaplasia columnar o mucinosa [PanIN]) se puede realizar cada 2-5 años. Se desconoce si la presencia de displasia de bajo o moderado grado aumenta el riesgo de recurrencia, pero recomiendan realizar visita médica y RM al menos cada 6 meses. El seguimiento de los TPML invasivos es idéntico al del adenocarcinoma pancreático.

GUÍA IAP ACTUALIZADA 2017³ (Figura 8)

En 2016 se llevó a cabo una reunión de la IAP en Sendai en la que se volvieron a revisar la guía Fukuoka del 2012 y la de la AGA del 2015 así como la nueva evidencia disponible acerca de la predicción de carcinoma invasivo/displasia de alto grado y el seguimiento. Dado que tan solo se realizaron correcciones menores el grupo decidió realizar aclaraciones y actualizaciones sobre la guía del 2012 centrando la revisión en las TPML-RL puesto que son las lesiones con mayor controversia a la hora de las indicaciones de tratamiento y de seguimiento, publicándose esta revisión en el 2017³.

En esta revisión añadieron nuevos “*worrisome features*” (hallazgos preocupantes) a los descritos previamente en la guía del 2012: aumento sérico de CA 19,9 (> 37 U/L), el crecimiento de la lesión > 5 mm en 2 años y la presencia de nódulo sólido con realce de < 5 mm. Además, a pesar de que en su revisión encuentran datos a favor de complementar el estudio con citología, bioquímica y marcadores moleculares tan solo recomiendan plantear dicha opción en centros especializados en los que se disponga de personal de Anatomía Patológica formado en citología. Los autores de esta actualización no recomiendan el empleo de USE-PAAF para el diagnóstico de pacientes con estigmas de alto riesgo o con “*worrisome features*” puesto que recomiendan en estos supuestos tratamiento quirúrgico y consideran que existe riesgo de fuga del contenido del quiste durante la punción y de diseminación peritoneal o gástrica. No obstante, aclaran que en dos estudios recientes la USE-PAAF preoperatoria de neoplasias quísticas pancreáticas o

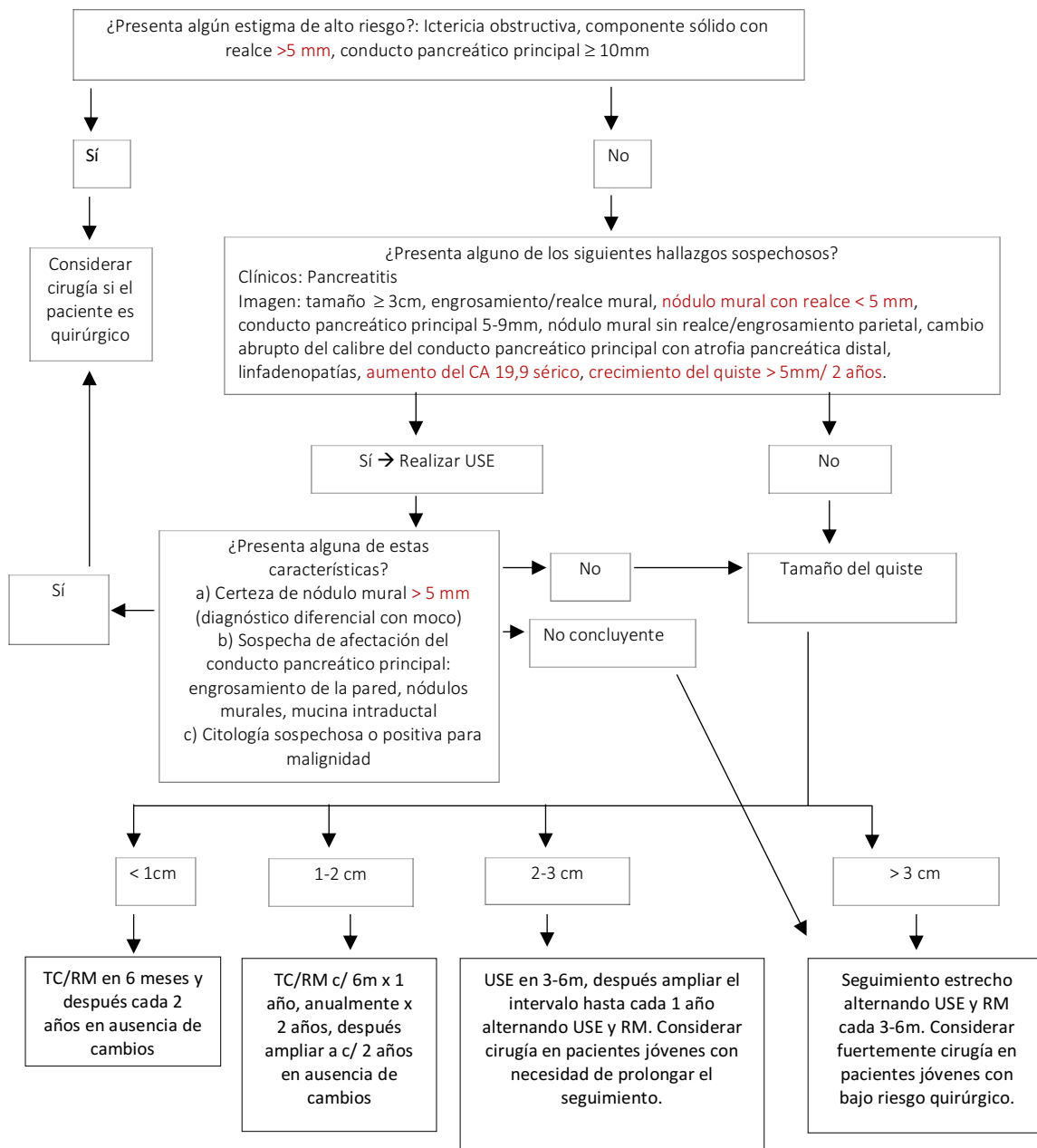
de adenocarcinomas pancreáticos no se asoció con aumento de recurrencia^{3,218}.

Prestan especial interés en los nódulos murales puesto que su presencia se relaciona con un claro aumento del riesgo de DAG o carcinoma invasivo. En análisis de TPML-RL intervenidos quirúrgicamente con nódulos de entre 5-10mm encontraron que todos ellos eran buenos predictores de DAG con una S 73-100% y una E 73-85%^{219,220}. En su revisión bibliográfica encontraron que aproximadamente el 10% de los TPML-RL malignos no contenían nódulo sólido, no obstante, prácticamente todos los casos se trataban de lesiones con DAG por lo que concluyen que la presencia de carcinoma invasivo en ausencia de nódulo mural es prácticamente excepcional^{3,220}. La USE-CEH es el mejor método diagnóstico para diferenciar estos nódulos murales de acúmulos de mucina.

En cualquier caso, siempre se deberán tener en cuenta a la hora de programar un seguimiento y tratamiento las características individuales de cada paciente y su esperanza de vida.

Algunos autores no se muestran de acuerdo con el umbral de 10mm de dilatación del CPP recomendado por la *"Fukuoka guideline"* como indicación directa de cirugía y recomiendan cirugía con una dilatación menor ante sospecha de afectación del CPP por elevado riesgo de malignidad. En la Guía Europea publicada en 2013 se recomienda operar aquellos TPML que asocien dilatación > 6 mm del CPP¹⁹⁵. Hackert et al encontraron en su estudio prospectivo en el que incluyeron pacientes intervenidos de TPML que entre los pacientes que presentaban afectación del CPP tanto los que presentaban dilatación entre 5-9,9 mm como aquellos con CPP > 10mm presentaban elevado porcentaje de malignidad siendo del 59% y 73% respectivamente, recomendando cirugía en aquellos pacientes con CPP > 5 mm²²¹. Sugimoto et al realizaron un estudio retrospectivo en el que incluyeron a 103 pacientes intervenidos quirúrgicamente de TPML-CP o TPML mixtos. En un 62,1% de los pacientes encontraron malignidad. La dilatación $\geq 7,2$ mm del CPP en pacientes con TPML-CP o de tipo mixto fue un factor de riesgo independiente para la presencia de malignidad, con una S 100%, E 10%, VPN 100%, VPP 65% y precisión diagnóstica del 66%, mientras que con la guía del 2012 encontraron una S 95%, E 10%, VPN 57%, VPP 64% y precisión diagnóstica 63%, por lo que proponen un algoritmo alternativo a las recomendaciones de la guía del 2012, disminuyendo a 7,2mm el diámetro del PP para recomendar cirugía²⁰⁴.

FIGURA 8: Algoritmo para el manejo de lesiones sospechosas de ser TPML-RL según Fukuoka guideline 2012 y su actualización en 2017 ^{2,3}



GUÍA EUROPEA 2013 y 2018^{30,195}

La primera Guía Europea sobre el manejo de quistes pancreáticos se publicó en 2013¹⁹⁵ y ha sido posteriormente actualizada en 2018³⁰. Como prueba de imagen radiológica para el estudio de NQP recomiendan la RM por su mayor precisión para identificar comunicación con el CPP, nódulos murales o septos en la lesión, aunque en algunas situaciones como es la presencia de calcificaciones que sugieran pancreatitis crónica, sospecha de malignidad o de recurrencia postquirúrgica tras intervención de neoplasia invasiva consideran que es superior el TC abdominal. La USE, según esta guía, estaría indicada en aquellos casos que presenten datos clínicos o radiológicos de sospecha durante el seguimiento de las NQPs y en caso de dudas diagnósticas. Recomiendan realizar una prueba de imagen radiológica combinado con USE en aquellas lesiones de aspecto indeterminado, y plantean la realización de USE-PAAF en estas lesiones > 15mm. Consideran que el empleo de USE-CEH es útil en la valoración de la vascularización del quiste, de los septos y en los nódulos murales, y que la USE-PAAF ayuda a diferenciar entre quistes mucinosos y no mucinosos y a detectar malignidad cuando los hallazgos radiológicos no son concluyentes, mejorando la precisión diagnóstica de la USE. No obstante, no recomiendan realizar USE-PAAF cuando no existen dudas diagnósticas o si existe una clara indicación quirúrgica.

Recomiendan la resección de aquellos TPMI que presenten síntomas relacionados con el páncreas (ictericia, masa sólida), nódulo mural con realce $\geq 5\text{mm}$, dilatación del CPP $\geq 10\text{mm}$ o citología positiva para DAG/malignidad. Como indicaciones relativas proponen el incremento $\geq 5\text{mm/año}$, el aumento de CA 19-9 sérico ($\geq 37\text{ U/ml}$), dilatación del CPP 5-9,9 mm, tamaño del quiste $\geq 40\text{mm}$, nódulo mural con realce $< 5\text{mm}$ o la presencia de diabetes de reciente comienzo o de pancreatitis aguda secundaria a TPMI. En caso de ser buen candidato quirúrgico, recomiendan cirugía si presenta una de las citadas indicaciones relativas, y en caso de pacientes de alto riesgo quirúrgico en caso de presentar al menos 2 de ellas. En cuanto a la técnica de resección, recomiendan realizar una resección oncológica si se sospecha malignidad/agresividad, pancreatectomía parcial para los TPMI-CP, TPMI mixtos, TPMI-RL unifocales o para el tratamiento individual de un TPMI en pacientes con TPMI-RL multifocal, evaluando de forma intraoperatoria mediante

criosección si se requiere ampliar la resección quirúrgica por afectación de los bordes con displasia moderada/severa o carcinoma invasivo en los TPML. No se requiere realizar crioesección de rutina en el resto de tipos de quistes.

Proponen realizar el seguimiento con niveles de CA 19-9 y RM/USE de aquellos quistes no resecados cada 6 meses el primer año y anualmente posteriormente mientras el paciente sea candidato quirúrgico. Se recomienda continuar con el seguimiento de los pacientes intervenidos mediante pancreatectomía parcial de TPML con RM/USE anual salvo que presentasen TPML invasivo, en cuyo caso se seguirán las recomendaciones de cáncer de páncreas. En pacientes no candidatos quirúrgicos se recomienda interrumpir el seguimiento.

Dado el potencial de malignidad de las NQMs y al mejor pronóstico si se realiza resección antes del desarrollo de neoplasia invasiva se recomienda su resección siempre que el diagnóstico sea firme. Recomiendan realizar resección oncológica en caso de presentar tamaño > 4cm, presencia de nódulos murales, masa asociada, o de calcificación en “cáscara de huevo” puesto que son hallazgos relacionados con malignidad. En ausencia de estos, se puede considerar realizar pancreatectomía distal incluso con preservación esplénica. En estos pacientes no se recomienda realizar crioesección intraoperatoria. No es necesario continuar el seguimiento salvo hallazgo de neoplasia invasiva, debiendo realizarse en estos casos seguimiento similar al cáncer de páncreas.

Los quistes serosos en esta guía se consideran quistes benignos. Recomiendan repetir prueba de imagen al año tras diagnóstico de lesión en prueba radiológica compatible con quiste seroso. Posteriormente no se recomienda seguimiento salvo presencia de síntomas derivados del mismo o dudas diagnósticas con TPML-RL. Hasta un 40% presentan crecimiento a lo largo de la evolución, pero este es lento y es poco frecuente que condicione sintomatología. Recomiendan cirugía en aquellos casos que presentan síntomas secundarios a compresión de estructuras adyacentes. Las neoplasias sólidas pseudopapilares suelen presentarse en mujeres jóvenes y, aunque el riesgo de malignidad es bajo, se recomienda tratamiento quirúrgico dado el perfil de los pacientes y la excelente supervivencia (95%) tras su resección. Aunque el tratamiento inicialmente recomendado es una resección oncológica es posible intentar realizar una pancreatectomía parcial con posible ampliación en caso de invasión local de tejidos adyacentes o vascular.

Se han descrito recurrencias y metástasis diferidas en el tiempo por lo que los pacientes deben mantener el seguimiento a largo plazo. En caso de presentar un quiste de características indeterminadas, si es menor de 15mm recomiendan seguimiento con prueba de imagen anual durante 3 años y en caso de estabilidad ampliar a cada 2 años. Si la lesión es mayor de 15mm recomiendan prueba de imagen radiológica y USE +/- PAAF, con seguimiento cada 6 meses el primer año y posteriormente anual en caso de persistir dudas acerca de la naturaleza del quiste.

AGA 2015⁹²

Por su parte en 2015 la AGA publicó su guía de recomendaciones para el manejo de las lesiones quísticas pancreáticas asintomáticas. En esta guía aumentan el umbral para considerar necesaria una cirugía o para completar el estudio con USE-PAAF a la presencia de al menos dos criterios sugestivos de malignidad por imagen (tamaño ≥ 3 cm, presencia de componente sólido o dilatación del CPP) o bien a la presencia de cambios significativos durante el seguimiento⁹² (**Figura 9**). En ausencia de estos criterios recomiendan realizar seguimiento con RM finalizando el seguimiento tras 5 años en ausencia de cambios. Aquellos quistes sin hallazgos sospechosos por USE-PAAF serán seguidos con RM para asegurar la ausencia de aparición de hallazgos que sugieran malignidad, sin embargo, se oponen a continuar el seguimiento con RM tras 5 años en ausencia de cambios significativos a diferencia de la guía de Fukuoka [tabla 5]. En caso de citología positiva (displasia de alto grado o carcinoma) y/o presencia de componente sólido y dilatación del CPP ≥ 5 mm en RM y USE se recomienda considerar tratamiento quirúrgico. No obstante, según la evidencia previa la presencia de componente sólido o una dilatación significativa del CPP son hallazgos relacionados con alto riesgo de malignidad por lo que parece razonable, aun en presencia de un solo factor de riesgo, plantear la realización de USE-PAAF en estos pacientes ⁴.

FIGURA 9: Guía del manejo de neoplasias quísticas pancreáticas asintomáticas, AGA 2015⁹²

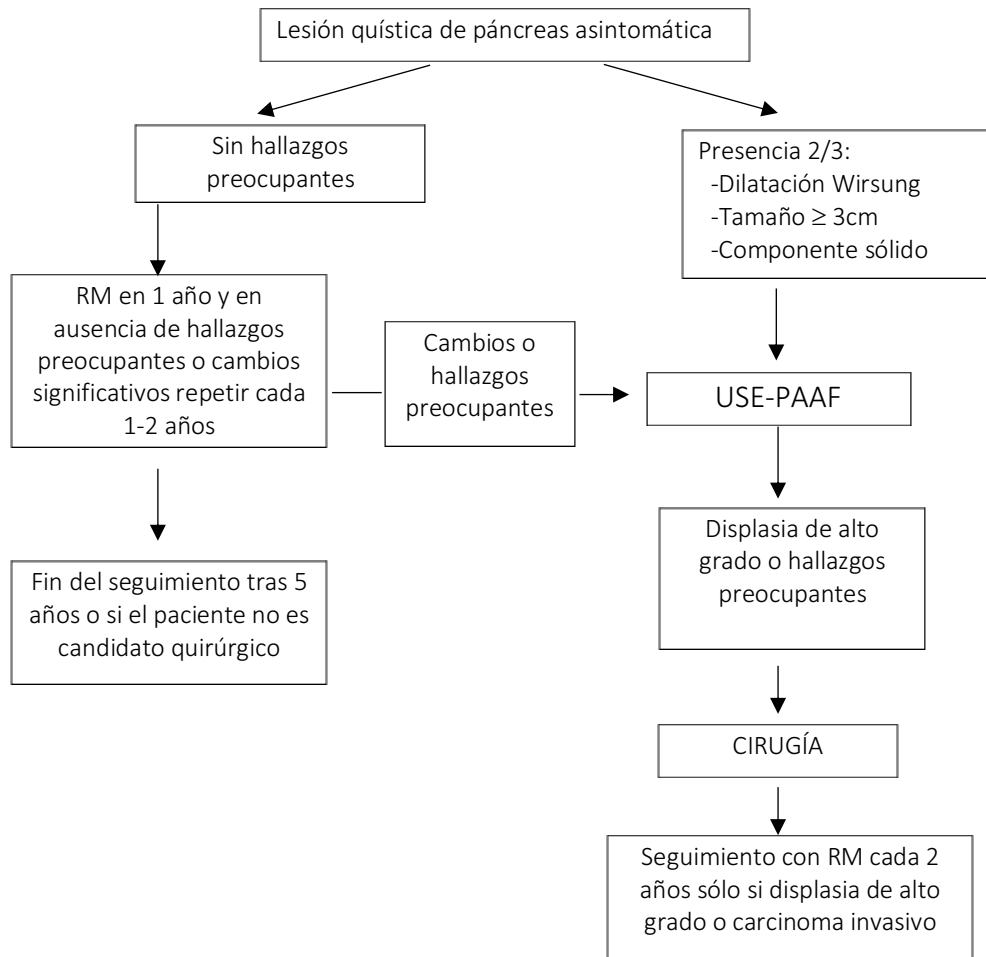


Tabla 5: DIFERENCIAS ENTRE GUÍA IAP Y AGA

	IAP	AGA 2015
POBLACIÓN DIANA	Sospecha de NQM o TPMI	Todos los quistes pancreáticos incidentales (asintomáticos)
MÉTODO DE IMAGEN RECOMENDADO	TC o RM	RM con colangiografía
UMBRAL PARA RECOMENDAR USE/CIRUGÍA	1 factor de riesgo	2 factores de riesgo o cambios significativos
SEGUIMIENTO EN QUISTES NO RESECADOS	Frecuente, basado en el tamaño del quiste	RM al año y posteriormente cada 2 años
INTERRUMPIR EL SEGUIMIENTO	<ul style="list-style-type: none"> - Si no resección: no específica - Si cirugía: interrumpir en NQS y NQM sin neoplasia invasiva 	<ul style="list-style-type: none"> - Tras 5 años en quistes no resecados estables (sin datos de riesgo) - No candidatos quirúrgicos - Si cirugía → interrumpir en NQS, NQM sin neoplasia invasiva, TPMI-RL sin displasia o con displasia de bajo o moderado grado

IAP: International Association of Pancreatology; AGA: American Gastroenterological Association. NQM: neoplasia quística mucinosa; TPMI: tumor mucinoso papilar intraductal; NQS: neoplasia quística serosa; TPMI-RL: tumor papilar mucinoso intraductal de rama lateral.

Tabla adaptada: Chiang AL, Lee LS. Clinical approach to incidental pancreatic cysts. World J Gastroenterol. 2016;22(3):1236-45.

Estas recomendaciones sugeridas por la AGA conllevan un descenso en la sensibilidad y especificidad para la detección de neoplasia avanzada, como demuestran Singui et al en su estudio publicado recientemente¹⁵, y tras la publicación de la guía de la AGA en 2015 varios autores han mostrado preocupación ante la falta de precisión para el diagnóstico de neoplasia avanzada y de la indicación de interrumpir el seguimiento, sugiriendo que estas recomendaciones no son adecuadas y poniendo especialmente en duda el manejo de los TPMI de rama lateral^{10,15,222-224}. Además, no diferencian el manejo en función del tipo de quiste por lo que pacientes con neoplasias serosas quísticas también continuarían realizando un seguimiento innecesario con RM¹⁵.

GUÍA ESGE 2017²⁰

En 2017 la Sociedad Europea de Endoscopia Gastrointestinal (ESGE) también publica su guía acerca de las indicaciones de USE-PAAF²⁰. En ella como novedad recomiendan realizar USE-PAAF con análisis citológico y bioquímico de los quistes > 10 mm en caso de que el resultado puede modificar la actitud, y determinar *KRAS* en casos seleccionados o

si la cantidad de líquido es tan escasa que no permite realizar otras determinaciones (CEA).

GUÍA ACG 2018³¹

Por su parte la guía Americana American College of Gastroenterology (ACG) sobre el diagnóstico y manejo de los quistes pancreáticos fue publicada en 2018³¹. Como prueba de imagen inicial recomiendan la RM y, en caso de quiste de naturaleza indeterminada, realizar USE-PAAF. Señalan que ni la RM, TC ni USE son lo suficientemente precisas para la definición del tipo de quiste ni para la detección de malignidad. Recomendán realizar USE-PAAF con CEA, citología y plantear análisis molecular en aquellos casos con diagnóstico indeterminado en el que el resultado pueda modificar la indicación de tratamiento o seguimiento del paciente. Recomendán seguimiento de aquellos pacientes con quistes compatibles con TPMI o NQM mientras sean candidatos quirúrgicos. En caso de presentar crecimiento > 3mm/año recomiendan realizar USE-PAAF o RM de forma estrecha por el riesgo de malignidad asociado. En caso de presentar ictericia, pancreatitis aguda, aumento del CA 19,9 en sangre, nódulo mural, dilatación del CPP > 5mm, dilatación focal del CPP, quiste mucinoso > 3cm o la presencia de DAG o células malignas en la citología recomiendan realizar USE-PAAF y/o derivar a comité multidisciplinar para valorar cirugía. En ausencia de estos hallazgos se recomienda seguimiento en función del tamaño de la lesión con RM o USE. No recomiendan seguimiento tras cirugía de NQS, pseudoquiste ni NQM que no presentaban carcinoma invasivo. En cambio, se recomienda el seguimiento postquirúrgico de los TPMI y de las neoplasias sólidas pseudopapilares.

GUÍA WGO 2019¹¹²

La última guía publicada es la guía de la World Gastroenterology Organisation Global Guideline (WGO) en 2019¹¹². En ella revisan las definiciones de los tipos de quistes, las indicaciones de realizar pruebas complementarias, de tratamiento quirúrgico e intervalos de seguimiento. Emiten recomendaciones basadas en las guías previamente detalladas, fundamentalmente en la IAP, aunque tienen en cuenta las diferencias en cuanto a los recursos económicos y técnicos en los diferentes países del mundo. Como pruebas de imagen iniciales para filiar el tipo de quiste recomiendan CPRM o USE-PAAF siempre que

sea posible. Una vez establecido el tipo de quiste recomiendan seguimiento con CPRM e interrumpirlo en los casos en los que el paciente no sea candidato quirúrgico. En caso de presentar cambios durante el seguimiento recomiendan realizar USE-PAAF y plantear tratamiento quirúrgico. Señalar de esta guía que en caso de realizar USE-PAAF recomiendan realizar las siguientes determinaciones en función del volumen aspirado siguiendo este orden: citología, CEA, marcadores moleculares diagnósticos (*KRAS*, *GNAS*, *VHL*, *CTNN1B*), marcadores moleculares pronósticos (*TP53*, *PIK3CA*, *PTEN*), mucinas, “string sign” y por último determinación de amilasa. Como se puede comprobar, **la tendencia en las últimas guías de práctica clínica es introducir el análisis molecular del líquido del quiste como parte del algoritmo diagnóstico para aumentar la precisión diagnóstica.**

- **IMPORTANCIA PRONÓSTICA**

En muchos casos va a ser difícil diferenciar entre los distintos tipos de quistes y el riesgo de malignidad sólo por criterios clínicos y morfológicos puesto que pueden presentar características similares^{24,91}. Para optimizar el rendimiento diagnóstico, como ya se ha expuesto previamente, se puede completar el estudio con USE-PAAF y con USE-CE.

En el estudio de Sigui et al evaluaron la precisión para detección de malignidad de la guía de la AGA y proponen un abordaje alternativo a esta guía con el fin de optimizar el manejo de estos pacientes¹⁵. Para ello seleccionaron 225 pacientes que fueron sometidos a USE-PAAF y describieron los hallazgos clínicos, características por USE, citología, niveles de CEA (tomando como punto de corte 192 ng/ml) y análisis molecular (*KRAS*, *GNAS*, *VHL*, *TP53*, *PIK3CA* y *PTEN*). De estos pacientes obtuvieron diagnóstico anatomopatológico en un 18% de los casos y encontraron neoplasia avanzada en un 6% de la muestra total. Concluyen que si se hubiesen seguido las recomendaciones de la AGA habrían obtenido una sensibilidad del 62%, especificidad del 79%, 57% de VPP y 82% de VPN para la detección de neoplasia avanzada, además de no identificar el 45% de los TPML con adenocarcinoma o displasia de alto grado. Proponen un abordaje alternativo basado en las recomendaciones de Fukuoka y de la AGA pero bajando el umbral para la realización de USE-PAAF a la presencia de la siguiente clínica o hallazgos por RM: tamaño del quiste igual o superior a 1,5 cm (puesto que la mayor parte de TPML con adenocarcinoma o

displasia de alto grado menores de 3 cm serían detectados poniendo como punto de corte 1,5 cm²²⁵), dilatación del CPP > 5 mm, presencia de nódulo mural, clínica relacionada con el quiste pancreático o antecedentes familiares de cáncer pancreático. Además, al incluir el análisis molecular en su algoritmo obtuvieron una sensibilidad del 100% y especificidad del 90% para neoplasia avanzada, y pudieron interrumpir el seguimiento posterior con RM al identificar adecuadamente las neoplasias quísticas serosas, salvo aquellos casos sintomáticos. Con las conclusiones obtenidas, a pesar de que este algoritmo precisa de validación con una población mayor y estudios prospectivos, en dicho estudio demostró aumentar la sensibilidad y especificidad para neoplasia avanzada y ofrecer un seguimiento personalizado y más coste-efectivo en función del tipo de quiste. Otros autores como Brugge et al también proponen realizar USE en aquellos TPML > 2cm, realizar análisis del líquido en caso de que el resultado de la citología pueda indicar un cambio en el tratamiento, y realizar CEA, *KRAS* y *GNAS* en casos de dudas diagnósticas²⁴.

Lennon et al y otros autores hacen crítica especialmente de la recomendación propuesta de la AGA de interrumpir el seguimiento tras 5 años en ausencia de hallazgos preocupantes o cambios significativos^{11,222}. Se apoyan en los conocimientos existentes hasta ahora sobre la progresión a adenocarcinoma pancreático, que se basa en la progresión de displasia de bajo grado a displasia de alto grado y posteriormente evolución a carcinoma invasivo, con un tiempo estimado de progresión de unos 15-20 años. Señalan que estudios multicéntricos han demostrado que TPML sin criterios de sospecha morfológicos pueden progresar a adenocarcinoma hasta pasados 16 años del diagnóstico. Dado que la supervivencia a 5 años del adenocarcinoma pancreático es del 6,7%, mientras que en aquellos pacientes que se someten a cirugía y presentan displasia de alto grado o adenocarcinomas pancreáticos de pequeño tamaño es >90%, el objetivo del estudio de las neoplasias quísticas pancreáticas debe ir dirigido a la detección de aquellas lesiones premalignas y a la detección precoz de hallazgos que orienten a malignidad, por lo que interrumpir el seguimiento podrían ser perjudicial para los pacientes.

En los últimos años se está intentando optimizar el manejo de los TPML-RL. En esta línea Ridditid et al publicaron recientemente los resultados de su estudio de cohortes retrospectivo en el que se incluyeron 364 pacientes con diagnóstico de TPML-RL según la

Guía de Consenso Internacional del 2012 y/o con diagnóstico patológico²²⁴. Evaluaron la asociación entre TPML-RL malignas y la presencia de estigmas de alto riesgo en las pruebas de imagen radiológicas, la utilidad de USE-PAAF para la detección de TPML-RL malignas, y los resultados del seguimiento por imagen o tras la cirugía. De los 364 pacientes incluidos, se realizó seguimiento por imagen de 229 mientras que 135 fueron sometidos a cirugía siendo 117 lesiones benignas (displasia de bajo o moderado grado) y 18 malignas (displasia de alto grado o carcinoma invasivo). Tras analizar el grupo de 135 quistes resecados quirúrgicamente encontraron que los estigmas de alto riesgo o de hallazgos sospechosos mediante TC o RM estaban presentes por igual en el grupo de neoplasias benignas y malignas, encontrando tan sólo relación entre la dilatación del CPP > 5mm y la presencia de TPML-RL maligna. En cambio, la presencia por ecoendoscopia de nódulo mural, afectación del CPP o citología positiva para malignidad ofreció una elevada precisión y especificidad para el diagnóstico de TPML-RL maligna, con una sensibilidad, especificidad y precisión del 33%, 94% y 86%, 42%, 91% y 83%, y 33%, 91% y 82% respectivamente. Además de los nódulos murales identificados por ecoendoscopia, un 28% de los del grupo maligno no fueron identificados por TC o RM. Por ello resaltan la importancia del valor añadido de la USE-PAAF sobre la TC y RM, sobretudo en pacientes sin hallazgos preocupantes en métodos de imagen radiológicos y en aquellas lesiones de pequeño tamaño. Señalan que si se hubiesen aplicado las guías del manejo de la IAP y de la AGA no se hubiesen detectado el 5% de los quistes con carcinoma invasivo. Tras el seguimiento durante 131 meses de aquellos quistes resecados quirúrgicamente concluyeron que los TPML-RL malignos presentaban mayor riesgo de recurrencia que los benignos (17% vs 7%, $p = 0,03$). Además, durante el seguimiento un paciente sin hallazgos sospechosos y citología benigna, pero con crecimiento > 50% desarrolló adenocarcinoma pancreático en una localización diferente del páncreas. Estos datos refuerzan la importancia de no interrumpir el seguimiento de estos pacientes.

Con relación a la precisión subóptima que ofrecen las guías en la orientación diagnóstica de los pacientes presentamos dos estudios que ponen en cuestión la utilidad de las mismas. Selma et al¹⁰ evalúan el porcentaje de intervenciones quirúrgicas de quistes pancreáticos que se llevan a cabo de forma innecesaria y el riesgo de no detectar malignidad o displasia de alto grado siguiendo las guías de la IAP 2012², la guía Europea 2013¹⁹⁵ y la guía de la AGA 2015⁹². Para ello realizaron un estudio retrospectivo en el que

incluyeron 115 pacientes que fueron sometidos a resección de los quistes pancreáticos. Estos pacientes fueron seleccionados para cirugía por sospecha de malignidad, NQM, SPN, tumor quístico neuroendocrino, presencia de síntomas y, en los casos de TPMI se seleccionaron aquellos con estigmas de alto riesgo (considerando nódulo mural con realce, dilatación CPP >10mm, ictericia o citología positiva para malignidad). Las indicaciones para cirugía relativas de los TPMI fueron la presencia de hallazgos preocupantes. Se clasificaron como quistes malignos los tumores quísticos neuroendocrinos, SPN y la presencia de displasia de alto grado o carcinoma invasivo. Describen que si se aplican las recomendaciones de la AGA de forma estricta un 12% de las neoplasias malignas no se habrían detectado, frente al 0% si se siguen aquellas de la IAP o la guía Europea. Adicionalmente, con las 3 guías un elevado número de pacientes fueron sometidos a cirugía no siendo estrictamente necesario (no obstante, se desconoce la evolución que hubiesen presentado estos casos si no hubiesen sido intervenidos quirúrgicamente), siendo menor este número si se siguen las recomendaciones de la AGA con la que se hubiesen evitado un 28% de cirugías innecesarias. Con ello concluyen que, aunque menos pacientes serán sometidos a una cirugía innecesaria si se siguen las recomendaciones de la AGA, existe un elevado riesgo de no identificar aquellas lesiones con displasia de alto grado o invasivas.

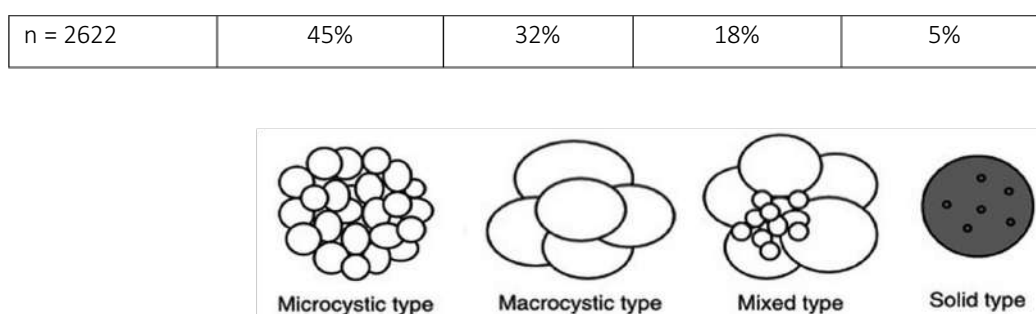
En otro estudio prospectivo realizado por Robles et al incluyeron 120 pacientes intervenidos quirúrgicamente de TPML-RL siendo un 30% lesiones malignas²²⁶. Tras analizar los resultados, en caso de haber seguido las recomendaciones de la IAP del 2012 se hubiesen detectado la mayor parte de las lesiones malignas, aunque con un elevado número de cirugías innecesarias, siendo la S, E, VPP y VPN para la detección de malignidad del 94%, 34%, 38%, 94%, con una precisión diagnóstica del 53%.

Las guías de práctica clínica en función de la clínica, los hallazgos morfológicos y citopatológicos, realizan sus recomendaciones acerca de la indicación quirúrgica de las NQPs [tabla 6]. No obstante, a pesar de seguir estas recomendaciones tal y como se ha justificado previamente, el número de cirugías innecesarias no es despreciable y debería ser el menor posible ya que las resecciones pancreáticas se asocian a una elevada morbilidad²²⁷.

En ocasiones el diagnóstico es sencillo, pero en otras, como se demuestra en el estudio de Jais B. et al, los hallazgos morfológicos no son suficientes para diferenciar entre

lesiones serosas y mucinosas¹. Por todo ello sugieren que la USE-PAAF es la única herramienta que permite diferenciar entre las diferentes neoplasias quísticas pancreáticas. En su estudio incluyeron 2622 pacientes con diagnóstico de NQS (por pieza quirúrgica, hallazgos radiológicos altamente sospechosos de seroso o por USE-PAAF con análisis del líquido). La imagen morfológica de las NQS podía ser muy variable (**figura 20**):

FIGURA 20: Cuatro subtipos morfológicos en neoplasias quísticas serosas¹:



En un 45% de los casos presentaban unas características morfológicas típicas de NQS, pero un 50% presentaban una morfología que sugería neoplasia quística de estirpe mucinosa. De los 2622 pacientes 1590 fueron intervenidos quirúrgicamente: un 60% por dudas diagnósticas, 23% por síntomas, 12% por presentar crecimiento, 6% por gran tamaño y un 5% por compresión de estructuras adyacentes. Encontraron 3 cistoadenocarcinomas siendo todas ellas lesiones > 7cm y sintomáticas, con mortalidad secundaria a la cirugía en 10 pacientes (0,6%). Concluyen que actualmente la realización de cirugía pancreática por una lesión benigna por dudas diagnósticas es inaceptable dado que se dispone de múltiples herramientas diagnósticas para evitarlo. En caso de duda acerca de la naturaleza de la lesión recomiendan realizar TC, RM y USE-PAAF. En caso de persistir dudas se dispone actualmente del análisis molecular con determinación de VHL que es altamente específico para el diagnóstico de seroso y que por tanto permite evitar cirugías innecesarias. Apoyan el manejo conservador de la mayor parte de SCN y recomiendan reevaluar la indicación de cirugía por síntomas secundarios ya que la mayor parte son inespecíficos y no atribuibles a la lesión serosa. C. Lombardo et al realizaron un estudio retrospectivo en el que incluyeron 1271 pacientes con hallazgo incidental de quistes pancreáticos de los cuales 105 fueron intervenidos quirúrgicamente ²²⁸. De los

pacientes intervenidos 27 fueron NQS asintomáticas, 14 de ellas en pacientes del sexo femenino y estando localizadas en cuerpo-cola, lo que sugería origen mucinoso, y tan solo en 2 se realizó USE preoperatoria y en 1 USE-PAAF por lo que concluyen al igual que en el estudio de Jais B et al que si solo se tienen en cuenta las características morfológicas y demográficas se realizan un elevado número de cirugías innecesarias de lesiones benignas.

Aunque hoy en día no hay un algoritmo establecido ni recomendado en guías de práctica clínica, cada vez más autores recomiendan el empleo de la combinación entre criterios clínicos, morfológicos, bioquímicos y moleculares el diagnóstico de los quistes pancreáticos. Recientemente Springer et al han desarrollado un algoritmo diagnóstico que denominan “*CompCyst*” para clasificar a los pacientes en aquellos que requieren tratamiento quirúrgico, los que requieren seguimiento y aquellos que podrían interrumpirlo evitando así cirugías y gastos innecesarios²²⁹. Compararon la actitud que se hubiese seguido empleando “*CompCyst*” o mediante criterios clínicos y morfológicos habituales en una cohorte de 426 pacientes con correlación histopatológica. De los pacientes que podrían ser dados de alta sin seguimiento, “*CompCyst*” identificó adecuadamente el 60% frente al 19% catalogados adecuadamente mediante la práctica clínica habitual. Los pacientes con quistes de estirpe mucinosa sin DAG tendrían indicación de seguimiento, pero no de cirugía identificándose adecuadamente el 49% mediante “*CompCyst*” frente al 34% identificados mediante la práctica clínica habitual. Por último, los pacientes con indicación quirúrgica fueron identificados tanto mediante “*CompCyst*” (91%) como mediante la práctica clínica habitual (89%), pero destacan que un 60% de las cirugías innecesarias se hubiesen podido evitar mediante el empleo del algoritmo “*CompCyst*”. Por ello concluyen que, aunque la combinación de criterios clínicos, morfológicos, bioquímicos y moleculares sigue siendo imperfecta, es superior a los resultados ofrecidos mediante la práctica clínica habitual.

- **TRATAMIENTO**

El tratamiento de elección de las NQP en caso de estar indicado es quirúrgico. No obstante la cirugía pancreática se asocia a una elevada morbilidad y mortalidad por lo que en pacientes de alto riesgo quirúrgico la USE ofrece la opción de realizar tratamientos ablativos de las lesiones quísticas con hallazgos de alto riesgo para disminuir el riesgo de

malignización y evitar someter al paciente a cirugías agresivas o a programas de seguimiento que a su vez llevan un elevado coste asociado^{230,231}. Por el momento estas técnicas solo se recomiendan dentro de protocolos de investigación debido a la baja evidencia acerca de su efectividad y a que asocian riesgo de efectos adversos, considerándose por el momento tratamientos paliativos en pacientes de alto riesgo quirúrgico. Dado que la glándula pancreática se encuentra en localización retroperitoneal, periduodenal y retrogástrica, la USE es la vía de abordaje de elección para la realización de los tratamientos ablativos por la proximidad del transductor a estas lesiones, lo que permite realizar una terapéutica guiada en tiempo real. Existen varias técnicas guiadas por ecoendoscopia:

- Etanolización: La inyección de etanol en el interior de una lesión quística induce la lisis de las membranas de las células epiteliales que revisten la cavidad del quiste seguido de desnaturalización proteica y oclusión vascular. La técnica consiste en la punción con aguja de 19 o 22G, aspiración y análisis del contenido, inyección del mismo volumen de etanol al 80% que líquido extraído que se deja actuar durante 3-5 minutos y posteriormente se vuelve a realizar aspiración. Se ha descrito una tasa de éxito medida como resolución en prueba de imagen del 33-38%, aunque según estudios depende del tipo de quiste probablemente por la presencia de septos intraquísticos (TPMI respuesta 11%, NQM 50%) siendo el resultado subóptimo en el caso de los TPMI²³¹. Esta técnica asocia un 3% de riesgo de pancreatitis aguda. Si se desea es posible inyectar contraste previo a la etanolización para descartar comunicación con el CPP y disminuir el riesgo de pancreatitis post-etanolización.
- Etanolización e inyección de agentes quimioterápicos: Es similar al procedimiento anterior y mediante su empleo se busca un efecto ablativo sinérgico entre ambas sustancias ya que el etanol lisa las membranas celulares y el paclitaxel realiza inhibición del tejido tumoral dañado. En el estudio de DeWitt et al obtuvieron una respuesta completa del 50%, parcial del 25% y persistencia del quiste en otro 25%. No obstante, asociaron un elevado número de efectos adversos: pancreatitis aguda en un 10%, peritonitis en un 3% y dolor abdominal en un 3%²³². Se han probado otras asociaciones de quimioterápicos (paclitaxel y gemcitabina)

asociados a etanol y en ausencia del mismo y, aunque el número de pacientes incluidos era pequeño, la tasa de resolución parcial y completa fue similar en ambos grupos sugiriendo que probablemente no sea necesaria la administración de alcohol cuando se empleen otros quimioterápicos, disminuyendo así el riesgo de pancreatitis aguda²³³.

- Radiofrecuencia: La ablación mediante radiofrecuencia (RF) causa una destrucción tisular a través de la aplicación de una corriente alterna de alta frecuencia que genera un aumento a nivel local de la temperatura y necrosis coagulativa secundaria. Se realiza mediante punción con agujas de 22 o 19 G específicamente diseñadas para RF, aspiración del contenido y posteriormente se introduce el catéter para RF, que se empleará bajo control ecoendoscópico y generalmente también radiológico. La intensidad de corriente y el número de pulsos para conseguir la ablación tisular están aún por definir. Por el momento, aunque hay estudios que podrían demostrar su eficacia en lesiones sólidas pancreáticas, existen pocos datos acerca de su empleo en NQPs y se ha asociado a complicaciones como pancreatitis aguda, perforación y a lesión de conductos biliares o estructuras vasculares por lo que no se recomienda fuera de ensayos clínicos.

Tabla 6: Indicaciones de tratamiento quirúrgico de los quistes pancreáticos según las diferentes guías de práctica clínica

DIAGNÓSTICO	Fukuoka actualizada 2017	Guía Europea actualizada 2018	AGA 2015
NQM	Cirugía	Tamaño $\geq 40\text{mm}$ Síntomas Nódulo mural	Cirugía
Neoplasia sólida pseudopapilar	No se menciona	Cirugía	Cirugía
TPMI-CP	Cirugía	Cirugía	Cirugía *Aunque requiere, además de la dilatación del CPP, confirmación de nódulo sólido o de citología positiva para malignidad.
TPMI mixto	Cirugía	Cirugía	Cirugía *Aunque requiere, además de la dilatación del CPP, confirmación de nódulo sólido o de citología positiva para malignidad.
TPMI-RL	INDICACIONES ABSOLUTAS - Ictericia obstructiva - Nódulo mural captante $\geq 5\text{mm}$ - CPP $\geq 10\text{mm}$ - Citología positiva para malignidad - Hallazgos sugestivos de afectación del CPP por USE: engrosamiento parietal, mucina intraductal o nódulo mural INDICACIONES RELATIVAS -Tamaño $\geq 3\text{cm}$ en pacientes jóvenes *Ante la presencia de hallazgos de sospecha (nódulo mural captante $< 5\text{mm}$, engrosamiento mural, CPP 5-9mm, cambio abrupto del calibre con atrofia distal, adenopatías, nódulo sin realce, aumento sérico del CA 19,9, crecimiento $\geq 5\text{mm}/2$ años): solicitar USE para detectar criterios de alto riesgo	INDICACIONES ABSOLUTAS - Ictericia obstructiva - Nódulo mural captante $\geq 5\text{mm}$ - CPP $\geq 10\text{mm}$ INDICACIONES RELATIVAS - Crecimiento $\geq 5\text{mm}/\text{año}$ - CPP 5-9mm - Nódulo mural captante $< 5\text{mm}$ - Tamaño $\geq 4\text{cm}$ - DM de reciente comienzo o pancreatitis aguda - Aumento sérico del CA 19,9 (≥ 37 U/ml)	-Componente sólido y conducto pancreático principal $\geq 5\text{mm}$ (por RM y USE) -Hallazgos preocupantes por USE (confirmación de nódulo mural) o citología positiva para malignidad

2.4. CLASIFICACIÓN DE LOS QUISTES PANCREÁTICOS

Existe una amplia variedad de lesiones quísticas incluyendo aquellas congénitas, inflamatorias y neoplásicas⁸³. Su clasificación es importante puesto que va a determinar el manejo del paciente. Se pueden clasificar en:

- **NO NEOPLÁSICAS:**
 - a) Quistes de retención
 - b) Quistes verdaderos o epiteliales
 - c) Quistes linfoepiteliales
 - d) Pseudoquistes
- **NEOPLASIAS QUÍSTICAS PANCREÁTICAS:** Existen fundamentalmente cuatro tipos de lesiones clasificadas por la Organización Mundial de la Salud en el 2000 (OMS)²³⁴ [tabla 7] Cada subtipo tiene su forma maligna y benigna. El pronóstico y tratamiento difiere entre las mismas por lo que es necesario realizar un diagnóstico diferencial adecuado. La más frecuente es el TPMI.
- **NEOPLASIAS SÓLIDAS CON COMPONENTE QUÍSTICO:** La degeneración quística se ha descrito en la mayor parte de los tumores sólidos pancreáticos incluyendo tumores neuroendocrinos y adenocarcinoma ductal²³⁵. Además, por fenómenos de necrosis intratumoral, también pueden presentar componente quístico las metástasis.

Tabla 7: Clasificación histológica de las neoplasias quísticas de páncreas (OMS)

a) Tumores quísticos serosos

- Cistoadenoma seroso
 - Adenoma microquístico seroso
 - Adenoma oligoquístico seroso
 - Cistadenocarcinoma seroso
-

b) Neoplasia quística mucinosa

- Cistoadenoma mucinoso
 - Neoplasia quística mucinosa con displasia moderada
 - Cistodenocarcinoma mucinoso
 - No invasivo
 - Invasivo
-

c) Neoplasia papilar intraductal mucinosa

- Adenoma papilar intraductal mucinoso
 - Neoplasia papilar intraductal mucinosa con displasia moderada
 - Carcinoma papilar intraductal mucinoso
 - No invasivo
 - Invasivo
-

d) Neoplasia sólida pseudopapilar

- Neoplasia sólida pseudopapilar
 - Carcinoma sólido pseudopapilar
-

Tabla adaptada: Álvarez LM, JC.; Hoyos, SI. Neoplasias quísticas del páncreas. Rev Colomb Cir. 2012;27:63-78.

2.5. TIPOS DE QUISTES PANCREÁTICOS

- **QUISTES DE RETENCIÓN**

Son pequeñas dilataciones de ramas periféricas del conducto pancreático principal secundarias a obstrucción, que puede ser debida a detritus y secreciones espesas en casos de fibrosis quística, a cambios secundarios a pancreatitis crónica, o a la presencia de neoplasia pancreática intraepitelial.

- **QUISTES VERDADEROS**

Se trata de lesiones quísticas formadas por un epitelio cuboidal lineal. Existen pocos casos descritos y se desconoce su evolución.

- **QUISTES LINFOEPITELIALES**

Se trata de lesiones benignas, generalmente asintomáticas, delineadas por un epitelio escamoso queratinizado rodeado por una capa de tejido linfoide. En ocasiones son difíciles de diferenciar de las NQPs por lo que es necesario el empleo de USE-PAAF para poder realizar estudio citológico en el que es posible encontrar células epiteliales y pequeños linfocitos maduros en un fondo de detritus de queratina, células escamosas anucleares e histiocitos²³⁶. Son poco frecuentes y su resección sólo está recomendada en casos sintomáticos.

- **PSEUDOQUISTES**

Son lesiones que pueden ocurrir en el curso de una pancreatitis aguda, pancreatitis crónica o secundarios a traumatismo abdominal. Se caracterizan por ser colecciones de líquido y detritus rodeadas por una pared o cápsula bien definida cuyo grosor será mayor conforme aumente su grado de maduración, y por carecer de revestimiento epitelial²⁵, motivo por el cual se denomina “pseudoquiste” al no tratarse de un quiste verdadero²⁴.

Radiológicamente suelen aparecer como una lesión quística única, sin septos ni componente sólido, de localización generalmente peripancreática. Su contenido suele ser homogéneo, hipodenso, y su cápsula realza tras administración de contraste, pero no su contenido. Se diferencian de las NQPs en que carecen de

revestimiento epitelial, presentan más frecuentemente detritus en su interior y cambios en el parénquima pancreático (secundarios a pancreatitis aguda previa o crónica), y menos frecuentemente nódulos murales y septos. En ocasiones comunican con el conducto pancreático pero frecuentemente esta conexión no es visible mediante TC, RM ni USE²³⁷.

La imagen típica por USE es de una lesión quística unilocular (tan sólo un 10-20 % son multiloculares), redondeada, sin septos ni componente sólido y con un parénquima pancreático que presenta cambios sugestivos de pancreatitis crónica como calcificaciones, atrofia de la glándula pancreática o cambios en la ecoestructura^{7,238}. La apariencia de la cápsula puede variar desde ser prácticamente invisible por su delgadez en quistes inmaduros hasta adquirir un grosor relevante²⁴. Los detritus internos se pueden ver como imágenes hiperecogénicas en el interior del quiste que se movilizan con la aspiración de su contenido o con los cambios posturales del paciente, siendo su presencia muy específica de los pseudoquistes²³⁸. En ocasiones el contenido de las NQM presenta una elevada viscosidad dando un aspecto granular que puede ser difícil de diferenciar de los detritus²³⁹. Otra característica que ayuda a diferenciarlos de las NQPs es que presentan cambios en su morfología en cortos periodos de tiempo²³⁸.

Con USE es posible el empleo de Doppler color de la pared del quiste, que frecuentemente muestra múltiples vasos prominentes incluyendo la posible presencia de varices perigástricas²⁴. La identificación de estructuras vasculares permite evitar su punción durante la realización de USE-PAAF.

En ausencia de historia de pancreatitis aguda o crónica y, aun en su presencia, se debe considerar la posibilidad de que se trate de una NQP²⁴⁰. Las NQP pueden ser la causa de pancreatitis aguda y también es posible el hallazgo de una NQP en un paciente con pancreatitis aguda de modo incidental, presentando riesgo de ser catalogadas como pseudoquistes. En el estudio de Fernández del Castillo et al²¹³ encontraron que las NQP representan más del 50% de los quistes pancreáticos, incluso en casos con historia previa de pancreatitis.

En algunos casos es difícil diferenciar los pseudoquistes de las neoplasias quísticas sólo por criterios morfológicos siendo necesario el análisis del líquido. El

análisis típicamente muestra un líquido con amilasa elevada y niveles de CEA bajos, y citología con detritus, células inflamatorias e histiocitos. La presencia de células epiteliales en cambio orienta hacia una neoplasia quística pancreática y los granulocitos hacia infección aguda²⁴.

La USE no sólo aporta información diagnóstica de los pseudoquistes sino que también se emplea como parte del “*step up approach*” en el manejo de los pseudoquistes sintomáticos o con datos de infección para la colocación de drenajes (prótesis curvas, rectas y de aposición luminal) bajo visión directa, siendo la vía de abordaje de elección para su tratamiento por la proximidad del transductor a la colección y por su capacidad de evitar posibles complicaciones derivadas de la punción de vasos que puedan estar en el trayecto de punción⁴⁵.

- **NEOPLASIA QUÍSTICA SEROSA**

Son más frecuentes en mujeres (~75%), generalmente mayores de 60 años²¹. Aparecen en cualquier región del páncreas²⁵. Representan un 10-16% de las NQP¹. Suelen ser asintomáticas, detectándose habitualmente como hallazgo casual, pero en ocasiones pueden producir náuseas, dolor abdominal o masa palpable debido al crecimiento de la lesión.

La gran mayoría son cistoadenomas serosos, es decir, lesiones benignas que se originan de las células centroacinares pancreáticas. Tiene un riesgo de degeneración < 1%^{195,205,241}.

Como se ha detallado previamente, su morfología típica es la microquística pero hasta en el 50% de los casos puede presentarse como variante oligoquística o macroquística, siendo estas últimas difíciles de diferenciar de NQM, pseudoquistes o TPML de rama lateral tan solo por criterios morfológicos^{1,238}.

Las NQS no se encuentran en comunicación con el sistema ductal, aunque por efecto masa puede dilatarlo. En un 20-30% de los casos la forma microquística se asocia a una cicatriz central estrellada²⁰⁵ y las calcificaciones son más frecuentes en tumores serosos que en los mucinosos.

La imagen típica por TC es una masa lobulada con innumerables quistes (más de 6) de pequeño tamaño (entre 1-20mm) que le da un aspecto de esponja. En ocasiones, debido al pequeño tamaño de los microquistes, se pueden confundir

radiológicamente con una neoplasia sólida endocrina pancreática²⁴², siendo de elevada utilidad la USE-PAAF para su diagnóstico en estos casos. Es posible observar una cicatriz central que puede tener una calcificación central estrellada o en rueda de carro que se considera patognomónica de esta entidad, o calcificaciones en los septos. La forma macroquística no presenta cicatriz central y puede ser indistinguible a la morfología de los NQM y TPMI de rama lateral siendo también de elevada utilidad la USE-PAAF en caso de dudas diagnósticas. Comparado con el TC la RM permite caracterizar con mayor sensibilidad la morfología de las lesiones microquísticas.

La imagen de NQS típica por USE es de múltiples compartimentos de pequeño tamaño en el interior de la lesión quística dando a la lesión un aspecto en panal de abeja. Estas áreas microquísticas se pueden disponer en el centro del quiste o adyacentes a un área macroquística. La cápsula tumoral esta poco desarrollada y por tanto hay poca distinción entre el tumor y el parénquima circundante²³⁸. Los septos internos son hipervasculares mediante su exploración con USE-CE²⁴³. En algunas ocasiones, a diferencia de otras lesiones, presenta un contorno lobulado y ausencia de una pared claramente diferenciada, no obstante, se recomienda realizar USE-PAAF y análisis del líquido ante dudas diagnósticas²³⁸. La presencia de cicatriz central calcificada tan sólo se observa por USE en el 11% de los casos frente al 20-30% de las observadas con TC.

Recientemente se ha asociado este tipo de neoplasia quística con el síndrome de *VHL* dada su asociación con esta patología y el hallazgo de mutaciones en el gen *VHL* en el análisis del líquido²⁴⁴. Los pacientes con Síndrome Von Hippel-Lindau (*VHL*) pueden presentar tumores sólidos o quísticos pancreáticos siendo los más frecuentes el tumor neuroendocrino y la forma oligoquística de NQS¹³². En caso de ser NQS presentan un curso benigno al igual que en el resto de los pacientes por lo que la cirugía está indicada sólo en casos sintomáticos. En cambio, los neuroendocrinos van a tener indicación quirúrgica puesto que se trata de tumores malignos con potencial para metastatizar.

En caso de dudas diagnósticas se recomienda realizar USE-PAAF para el análisis del líquido. Su contenido se caracteriza por ser de baja viscosidad, con CEA típicamente <5ng/ml²⁰⁵, amilasa < 250 UI/L y CA 19,9 <37 U7ml(179). El análisis

citológico muestra células epiteliales cuboidales ricas en glucógeno. Es posible además apoyar el diagnóstico mediante la realización de análisis molecular ya que las NQS presentan típicamente mutación en *VHL* pero no en *KRAS* ni *GNAS*, lo que permitiría diferenciar de forma precisa entre lesiones mucinosas y serosas^{13,18}.

Dado que se trata de lesiones benignas, la cirugía va a estar indicada en caso de compresión de estructuras adyacentes o casos sintomáticos tras investigar adecuadamente la asociación sintomática ya que en muchos casos se trata de síntomas inespecíficos¹. En caso de dudas diagnósticas estaría indicado realizar USE-PAAF debido a la morbilidad asociada a la cirugía pancreática^{1,227}. Algunos autores recomiendan realizar controles por imagen a los quistes de gran tamaño puesto que se ha descrito que en algunos casos desarrollan crecimiento significativo²⁴⁵, aunque por el momento se desconoce los intervalos y duración óptima de dicho seguimiento²⁴⁴.

- **NEOPLASIA QUÍSTICA MUCINOSA**

Se presentan casi exclusivamente en mujeres (99,7%), con una media de edad de 50 años al diagnóstico²⁴⁶, y su localización más frecuente es en el cuerpo y cola pancreáticos probablemente debido a la proximidad embriológica de las gónadas femeninas a la cola pancreática durante el desarrollo embrionario^{244,247}, aunque también pueden aparecer en la cabeza pancreática²⁵. Representa aproximadamente un cuarto de los tumores resecados²⁴⁸, de los cuales un 15% presenta carcinoma invasivo⁴. Se ha descrito un potencial de malignidad que oscila entre el 4-36%^{5,28,246}. Según publicaciones más recientes, el potencial de malignidad sería inferior al de otros tumores mucinosos (TPMI), rondando el 15%¹⁰ y describen que aquellas NQM con un tamaño < 4 cm y sin presencia de nódulos murales no presentan displasia de alto grado ni malignidad^{10,119,249}. Factores de riesgo que se han relacionado con malignidad son la elevación sérica de CA 19,9, el tamaño > 4cm, la presencia de nódulos murales y la pérdida de peso²⁴⁶.

Comparado con otros tipos de NQP suelen presentar un mayor tamaño al diagnóstico por lo que es más habitual que asocien síntomas²⁴⁷ como dolor abdominal, episodios recurrentes de pancreatitis, obstrucción del tracto de salida

gástrico o masa abdominal palpable. La ictericia y el síndrome constitucional en caso de presentarse orientan a malignidad.

Macroscópicamente se trata de lesiones quísticas revestidas por epitelio mucinoso con diferentes grados de atipia, generalmente de gran tamaño, rodeados por una pseudocápsula fibrosa de grosor variable, y que en ocasiones asocia calcificaciones, nódulos y septos. Generalmente son macroquísticas, menos frecuentemente microquísticas. A diferencia de los TPMP se presentan como lesiones únicas²⁰⁵ y no comunican con el CPP.

Radiológicamente por TC y RM suelen visualizarse como quistes únicos, uniloculares o multiloculares, de pared engrosada, localizados en cuerpo o cola pancreáticos, frecuentemente con septos y ocasionalmente con nódulos murales y calcificaciones. Tienen un patrón macroquístico con menos de 6 espacios quísticos, generalmente de gran tamaño (> 2 cm). Tras administración de contraste presentan realce de los septos y nódulos murales²⁴⁴. Son quistes de estirpe mucinosa, pero a diferencia de los TPMP no comunican con el sistema ductal pancreático. Los cambios radiológicos asociados a malignidad son: el tamaño > 5 cm, la presencia de una pared engrosada de forma irregular, calcificación de la pared, masa o componente sólido ⁴⁶.

Por ecoendoscopia presentan una morfología variable. Generalmente serán lesiones bien definidas, únicas, redondeadas, uniloculares, aunque suelen presentar varios compartimentos internos (lo habitual es que sean menos de 6 compartimentos y de tamaños superiores a 1-2cm), separados por septos internos. No comunican con el Wirsung y están rodeados por una pared visible, de más de 2mm de grosor, pudiéndose ver contenido hiperecogénico de forma granular en relación con contenido mucinoso²³⁸. Menos de un 10-25% de los casos presentan calcificaciones periféricas, que se disponen característicamente de forma curvilínea o “en cáscara de huevo”, asociándose este hallazgo a malignidad²⁵⁰.

El análisis del líquido muestra un contenido viscoso, siendo muy útil el llamado “string sign”, con niveles de CEA elevados, y de amilasa normales, con mutación en *KRAS*. Además, el CA 19,9, marcadores como MUC1C, o mutaciones en p53 y

SMAD4 podrían estar asociados con displasia de alto grado y carcinoma invasivo^{57,205}.

La presencia en el análisis anatomopatológico de un estroma de tipo ovárico rodeando el tumor y una capa epitelial compuesta por células productoras de mucina son patognomónicos de esta entidad^{46,205}. El estroma de tipo ovárico muestra positividad para vimentina, actina de músculo liso y receptores de estrógeno y progesterona. Con las NQM existe una variación histopatológica significativa, con regiones de epitelio sin alteraciones adyacentes a áreas de carcinoma invasivo, por lo que el análisis completo de la pieza quirúrgica para determinar malignidad es de gran importancia²⁴⁴.

Debido al riesgo de malignidad y al hecho de que se suelen diagnosticar en pacientes de edad media, está indicado el tratamiento quirúrgico. Como posibles técnicas quirúrgicas se recomienda realizar pancreatectomía distal valorando preservación esplénica dada la localización de estos tumores y el bajo riesgo de neoplasia invasiva, o incluso enucleación²⁵¹. No obstante, estudios recientes sugieren individualizar en caso de lesiones de tamaño < 4cm y en ausencia de nódulos murales dado que describen ausencia de malignidad en estos casos¹⁰. Debido a que el potencial de malignidad es relativamente bajo, en pacientes con elevado riesgo quirúrgico sin datos sugestivos de malignidad se podría optar por manejo conservador y seguimiento². En pacientes con datos sugestivos de malignidad y con alto riesgo quirúrgico o que rechacen la cirugía se podría plantear la etanolización por ecoendoscopia habiendo demostrado en estudios previos una tasa de resolución por TC abdominal en el 33-79% de los casos aunque una vez la lesión quística colapsa no es posible realizar seguimiento adecuado mediante técnicas de imagen, además de no estar exenta de complicaciones como pueden ser el dolor abdominal, la pancreatitis aguda y obliteración de la vena esplénica, por lo que por el momento no se recomienda su empleo fuera de ensayos clínicos^{252,253}.

Tras su resección no está indicado el seguimiento posterior por puesto que se considera curativa, excepto en casos en los que se encuentre un carcinoma invasivo en la pieza quirúrgica²⁵¹ en cuyo caso se recomienda realizar el

seguimiento mismo seguimiento que se realizaría en adenocarcinomas pancreáticos.

- **NEOPLASIA MUCINOSA PAPILAR INTRADUCTAL**

Epidemiológicamente es la tercera neoplasia del páncreas más frecuente y representa actualmente hasta un 50% de las NQP²⁰⁵. Tienen mayor predisposición por la cabeza y el proceso uncinado pancreático. Suele diagnosticarse en pacientes mayores de 50 años y no existe una clara diferencia entre ambos sexos²⁵, aunque algunos autores señalan cierta predisposición por el sexo masculino²¹. Pueden proceder del conducto principal (TPMI-CP), de ramas laterales (TPMI-RL) o presentar características de ambos (TPMI mixto)²⁴⁴. Su clasificación tiene importancia por el diferente riesgo de malignidad, no obstante, está basada en hallazgos por imagen preoperatorios que no siempre se correlacionan con el resultado histológico de la pieza quirúrgica²⁰², pudiendo por ejemplo encontrarse casos de dilatación significativa del CPP secundaria a la secreción espesa de mucina por un TPMI-RL ²⁰³.

Se caracterizan por ser lesiones formadas por células columnares productoras de mucina del sistema ductal pancreático que proliferan dentro de los conductos, con crecimiento papilar, y que dilatan el sistema ductal pancreático por el propio crecimiento intraductal o por la sobreproducción de mucina²⁴⁴. Esta extensión intraductal no siempre es visible con métodos de imagen radiológicos, por lo que puede pasar desapercibida sobretudo en estadios iniciales.

Radiológicamente pueden ser lesiones micro o macroquísticas que comunican con el conducto pancreático principal pudiendo producir una dilatación difusa o segmentaria de este en ausencia de una estenosis ductal significativa. La USE, y sobretudo la IDUS, ofrecen mayor sensibilidad y especificidad que otros métodos de imagen sobretudo para valorar la extensión intraductal, aunque por el momento la IDUS no se incluye en las guías del manejo de las neoplasias quísticas pancreáticas^{179,184}. Comparten con las NQM que son neoplasias de estirpe mucinosa, pero a diferencia de estas pueden llegar a ser multifocales hasta un 20-30%^{21,254}.

En la actualidad, con el aumento de estudios de imagen realizados por otros motivos, la mayoría se diagnostican en fase asintomática. Sólo un 2-20% van a debutar con sintomatología²⁵⁵. Generalmente la clínica es debida a que la secreción mucinosa puede generar obstrucción del Wirsung y provocar dolor abdominal, pancreatitis aguda e ictericia.

Los TPML, al igual que ocurre con el ACP, pueden degenerar siguiendo la secuencia displasia a carcinoma y su estadificación es la misma que la del ACP. Suelen diagnosticarse de forma más precoz siendo generalmente diagnosticados y resecados cuando son T1 (tumores menores de 20mm y localizados en el páncreas)^{256,257}. No obstante, si se analiza la supervivencia tras resección quirúrgica de las TPML malignas y de los ACP por estadio la supervivencia es similar^{256,257}.

El análisis del líquido muestra un fluido de alta viscosidad (mucinoso), con niveles de amilasa elevados así como mutaciones de *KRAS* y *GNAS*⁴⁶. Las mutaciones en *KRAS* suelen aparecer precozmente mientras que, conforme la enfermedad avanza, se detectan mayor número de mutaciones como *TP53*¹⁴³. Otro biomarcador que podría estar relacionado con malignidad según el estudio de Yabusaki et al es un polimorfismo de *VEGF*²⁵⁸.

Histológicamente existen diferentes clasificaciones que se emplean para los TPML. La citología puede indicar presencia de células hiperplásicas o displásicas en grado variable, pudiendo clasificar las NQP en displasia leve, displasia de alto grado (carcinoma *in situ*), y en carcinoma invasivo. Las TPML invasivas pueden ser de tipo coloide o tubular presentando este último morfología y pronóstico similar al del adenocarcinoma pancreático^{198,257,259}. Los de tipo coloide presentan más frecuentemente mutación de *GNAS*, mientras que *KRAS* es frecuente encontrarlo en el tipo tubular (similar al PDAC)²⁵⁷. Según el tipo celular, morfología de las papilas y el inmunofenotipo diferenciamos 4 tipos histológicos con diferentes pronósticos. Los diversos subtipos muestran un patrón característico de expresión de mucinas (MUC1, MUC2, MUC5AC, MUC6) y del factor de transcripción CDX-2. El subtipo histológico se ha descrito como el segundo factor predictivo de supervivencia de estos tumores después de la estadificación TNM,

aunque estos sólo se pueden diferenciar mediante el análisis histológico de la pieza quirúrgica^{205,260}:

- **Gástrico** → La mayoría de los TPML-RL son de este tipo. Son lesiones de bajo grado de malignidad. En un pequeño porcentaje desarrollan adenocarcinoma, que será de tipo tubular, con la misma histología y pronóstico que el adenocarcinoma pancreático convencional¹⁹⁸. Son positivas para MUC5AC, al igual que las PanIN (neoplasias intraepiteliales pancreáticas), y negativas para MUC1 y MUC2²⁰⁵. Es frecuente detectar mutaciones en GNAS y a veces inactivación de RNF43¹⁹⁸. Se cree que las glándulas ductales pancreáticas pueden dar lugar tanto a PanIN como a TPML-RL de tipo gástrico²⁵⁹, estando esta teoría apoyada por los hallazgos histológicos, pronóstico y la elevada prevalencia de TPML-RL en familias de alto riesgo de cáncer pancreático. De hecho, algunos autores defienden que las TPML-RL podrían ser formas difusas de PanIN más que patologías diferentes²⁶¹.
- **Intestinal** → Suele encontrarse en TPML-CP y tiene un riesgo de malignidad elevado, encontrando carcinoma invasivo en un 45% de las piezas resecadas, que suele ser de tipo coloide, y displasia de alto grado en otro 20%, aunque la supervivencia es más favorable que los de tipo tubular¹⁹⁸. Expresan CDX2, MUC2 (marcadores intestinales) y MUC5A, pero no MUC1 ni MUC6²⁶². Al igual que en el subtipo gástrico es frecuente detectar mutaciones en GNAS y a veces inactivación de RNF43¹⁹⁸.
- **Pancreaticobiliar** → Se dan con menor frecuencia y suelen afectar al conducto pancreático principal. Son positivas para MUC5AC y MUC1, y negativas para MUC2, MUC6 y CDX2. Las mutaciones en GNAS son frecuentes¹⁹⁸. Suelen asociar displasia de alto grado y en caso de presentar carcinoma este será de tipo tubular, similar al adenocarcinoma ductal pancreático^{198,205,263}.
- **Oncocítico** → Más frecuentes en TPML-CP, aunque puede extenderse por las ramas laterales. Se caracterizan por la presencia de células oncocíticas. Son positivas para MUC1 y MUC6. Típicamente muestran displasia severa

o carcinoma invasivo. A diferencia de los otros subtipos no presenta mutaciones en *GNAS* ni *KRAS*, y muy ocasionalmente en *RNF43*¹⁹⁸.

Dependiendo de su relación con el conducto pancreático principal y si involucran a las ramas laterales dividimos las TPMI en:

- **Conducto principal (TPMI-CP) →** Se caracterizan por afectar al conducto pancreático principal y producir una dilatación del Wirsung, ya sea difusa o segmentaria, mayor a 5-6 mm²⁰⁵. Producen sintomatología más frecuentemente que los TPML-RL debido a la obstrucción del conducto pancreático principal por su contenido mucinoso. Su principal diagnóstico diferencial es con la pancreatitis crónica.

Por técnicas de radiodiagnóstico se caracteriza por presentar dilatación del CPP >5mm, que puede ser segmentaria o difusa, sin una causa obstructiva aparente. La RM puede detectar nódulos intraductales que se ven como defectos de repleción. Por USE se caracteriza por la dilatación difusa o segmentaria del Wirsung, pudiendo detectar nódulos o crecimiento papilar su interior. En un 30% de los casos se observa en visión endoscópica expulsión de secreción densa mucinosa por el orificio papilar, sobre todo en los TPML-CP y TPML de tipo mixto, siendo este hallazgo patognomónico de esta entidad^{205,239}. Mediante CPRE se pueden detectar defectos de repleción y además permite realizar aspirado y cepillado del Wirsung aunque actualmente no se recomienda. La pancreatoscopia permite visualizar el crecimiento papilar intraductal. Con la USE es posible detectar la presencia de componente sólido y dirigir sobre éste la toma de biopsias para aumentar su rentabilidad diagnóstica²⁶⁰.

Son las neoplasias quísticas pancreáticas que tienen el mayor potencial de malignidad siendo aproximadamente del 62%². Además, se ha descrito invasión carcinomatosa en el 30-50% de los casos²⁰⁵ aunque esto es difícil de predecir previo a la cirugía, detectándose menos del 80 % de las lesiones invasivas preoperatoriamente. Por ello el tratamiento de elección, siempre que la edad y el estado del paciente lo permitan, es la cirugía^{2,205}.

- **Rama lateral (TPMI-RL) →** Caracterizadas por presentar crecimiento en las ramas laterales y por comunicar con el conducto principal sin producir dilatación del mismo²⁴⁴. Representan la mayor parte de las NQP que se diagnostican de modo incidental. Presentan una clara tendencia al desarrollo sincrónico o metacrónico de adenocarcinoma en una región del páncreas alejada de los TPMI, fundamentalmente las de tipo gástrico. La frecuencia de cáncer concomitante en pacientes con TPMI se describe entre el 7-11%, con una incidencia anual del 1,1%. Además, gracias a la mejoría de las técnicas de imagen hoy en día se puede afirmar que los TPMI-RL son tumores que se desarrollan de modo difuso, detectándose en un 21-41% de los casos al menos 2 lesiones independientes²¹.

Con la RM y EUS-PAAF es posible realizar una aproximación diagnóstica y estimar un riesgo prequirúrgico. Aproximadamente un 25% presentan malignidad^{2,205} y un 1-2% anual la desarrollarán durante el seguimiento.

Por métodos de imagen radiológicos suele detectarse como una lesión quística en la cabeza o cuello pancreático con pequeños espacios quísticos en su interior, separados por septos internos, y con comunicación con el CPP. Para valorar la comunicación con el CPP va a ser de mayor utilidad la ColangioRM que la TC^{33,244}. La imagen típica por USE es una lesión multiloculada que asemeja un “racimo de uvas” producida por la dilatación de ramas laterales por contenido mucinoso²³⁸, con comunicación con el CPP. En el estudio de Kim et al demostraron que no existen diferencias significativas en la detección de dicha comunicación entre la USE y RM⁴¹. Presenta un aspecto de quistes adyacentes unos a otros y un contorno irregular frente al aspecto morfológico de las NQMs en las que se observa una imagen de quiste en el interior de otro quiste y un contorno redondeado²³⁸. Además, dentro de la misma lesión se pueden encontrar dilataciones quísticas con distintas morfologías por lo que se dice que presentan un aspecto pleomórfico.

La multifocalidad es una característica relativamente específica de estas lesiones. Otras condiciones asociadas a multifocalidad son el Síndrome de

Von Hippel-Lindau, tumores neuroendocrinos múltiples o metástasis con patrón quístico²³⁸.

En pacientes con diagnóstico o elevada sospecha de TPML-RL el siguiente paso va a ser determinar el riesgo de malignidad. En un metaanálisis en el que se incluyeron 1373 pacientes con TPML-RL se concluye que la presencia de nódulos murales, la dilatación del conducto pancreático principal, el engrosamiento mural o un tamaño del quiste superior a 3 cm mediante técnicas radiológicas o por USE son factores independientes de malignidad en estas lesiones²⁶⁴. Según la Guía de Fukuoka actualizada en 2017 consideran que la dilatación > a 10mm del Wirsung, la presencia de componente sólido con realce > 5mm y la ictericia obstructiva se asocian con alta probabilidad a malignidad, y como “hallazgos preocupantes” describen tamaño ≥ 3 cm, engrosamiento/realce mural, nódulo mural con realce < 5 mm, conducto pancreático principal 5-9mm, nódulo mural sin realce/engrosamiento parietal, cambio abrupto del calibre del conducto pancreático principal con atrofia pancreática distal, linfadenopatías, aumento del CA 19,9 sérico y el crecimiento del quiste > 5mm/ 2 años³.

En caso de sospecha de malignidad o en pacientes sintomáticos la cirugía va a estar indicada siempre que el paciente sea un buen candidato quirúrgico²⁰⁵. En cuanto a las TPML-RL multifocales la decisión de indicación quirúrgica debe basarse en las características individuales de cada quiste y no en el hecho de que sea multifocal²¹.

En ausencia de sospecha de malignidad el seguimiento lo va a determinar el tamaño del quiste tal y como se ha detallado previamente en la guía de Fukuoka 2017(ver apartado 2.3.6: abordaje diagnóstico. Guías clínicas)³.

A diferencia de las NQM intervenidas en las que no hay carcinoma invasivo, las TPML-RL van a requerir continuar con el seguimiento ante la posibilidad de progresión de TPML-RL sincrónico no detectado previo a la cirugía, del desarrollo de una nueva TPML-RL o del desarrollo de un adenocarcinoma pancreático²⁰⁵.

- **Mixtos** → Presentan características de ambos afectando al sistema ductal principal y las ramas laterales. Tienen un potencial de malignidad similar al de TPMP-CP por lo que el manejo va a ser el mismo²⁰⁵.

Tabla 8: Características generales de los quistes más prevalentes

PARÁMETROS	PSEUDOQUISTES	TPMI (RL y CP)	NQM	NQS
Epidemiología	Abuso alcohol, antecedente de pancreatitis, hombres de edad media	Pacientes de edad media-avanzada	Mujeres de edad media	Generalmente mujeres de edad avanzada
Localización	Frecuentes en cola, de tamaño variable	Frecuentes en cabeza pancreática, a veces multifocales	Cuerpo y cola, lesiones únicas	Localización variable, múltiples quistes pequeños u oligo/macroquística
TC/RM	Generalmente quistes uniloculares, cambios inflamatorios en el parénquima	CP: Afectación difusa o segmentaria del CPP RL: Quistes o agrupaciones de quistes comunicados con CPP, a veces multifocal	Quistes de gran tamaño con septos gruesos, calcificaciones periféricas, engrosamiento mural	Microquísticos, múltiples quistes de pequeño tamaño, cicatriz central con calcificación, a veces oligoquísticos
USE	Pared gruesa, anecoicos, uniloculares. Posible pancreatitis crónica	CP: dilatación del CPP, nódulos hiperecogénicos en el CPP RL: pequeñas agrupaciones de dilataciones de ramas secundarias en “racimo de uvas”, nódulos murales	Lesiones macroquísticas con escasos septos. A veces calcificación focal periférica, no dilatación ductal	Múltiples quistes de pequeño tamaño que dan aspecto de “panal de abeja”, a veces cicatriz central o calcificación
Citología	Detritus, células inflamatorias, histiocitos. NO células epiteliales	Tinción positiva para mucina, células mucinosas epiteliales con atipia variable, escasamente celular	Células mucinosas epiteliales con atipia variable, tinción positiva para mucina	Generalmente acelular y no diagnóstica, pequeños acúmulos de células cuboidales, tinción positiva para glucógeno
Análisis del líquido	- Líquido fluido, claro o marrónáceo, no mucinoso, a veces hemático - CEA bajo - Amilasa elevada	- Líquido viscoso, mucinoso, “string sign” - CEA elevado - Amilasa generalmente elevada - Mutaciones en KRAS y/o GNAS	- Líquido viscoso, mucinoso, “string sign” - CEA elevado - Amilasa generalmente baja - Mutaciones en KRAS	- Líquido fluido, claro o a veces hemorrágico - CEA bajo - Amilasa baja - Mutación VHL

Tabla adaptada: Brugge WR. Diagnosis and management of cystic lesions of the pancreas. Journal of gastrointestinal oncology. 2015;6(4):375-88

- **NEOPLASIA SÓLIDA PSEUDOPAPILAR**

Son neoplasias poco frecuentes, representando un 3 % de los tumores quísticos pancreáticos resecados y un 0,2-2,7% de los cánceres pancreáticos²⁶⁵. Afecta predominantemente a mujeres (>80%) con una edad media en torno a los 25 años, estando el 20-25% de los casos diagnosticados en edad pediátrica²⁶⁶⁻²⁶⁸. Se localiza en cualquier región del páncreas²⁵, aunque hay autores que describen que podrían localizarse más frecuentemente en la cola pancreática²⁶⁵. En raras ocasiones pueden ser multicéntricos o localizarse extra pancreáticos, como en el mesocolon, retroperitoneo, hígado o duodeno. La mayoría de las SPN son inicialmente tumores sólidos que posteriormente presentan degeneración quística. No comunican con la vía biliar ni pancreática.

Pueden diagnosticarse como un hallazgo incidental en pruebas de imagen, aunque son más frecuentes los casos sintomáticos, generalmente debido al crecimiento tumoral. Pueden presentar clínica como dolor abdominal, pancreatitis aguda, ictericia o masa palpable.

Mediante técnicas radiológicas se suelen visualizar como lesiones bien definidas heterogéneas, con componente sólido y quístico, y se encuentran rodeados por una cápsula fibrosa periférica que ocasionalmente presenta calcificaciones irregulares^{205,244}. Tras administración de contraste se observa realce de la cápsula y del componente sólido. Generalmente el componente sólido se encuentra en la periferia mientras que en las zonas centrales se observan áreas de hemorragia y degeneración quística²⁴⁴.

La USE puede mostrar una masa de contenido heterogéneo rodeada por una cápsula. El análisis del líquido tras obtener una muestra por EUS-PAAF aumentan el rendimiento diagnóstico a más del 80%²⁴⁴, mostrando papilas ramificadas y estroma mixoide. Se ha descrito que la discontinuidad focal en la cápsula podría asociarse con malignidad²⁶⁹. El análisis inmunohistoquímico puede emplearse para confirmar el diagnóstico en el que se observa positividad para receptores de progesterona, vimentina y para beta-catenina. Existe variabilidad para marcadores neuroendocrinos. El índice de proliferación Ki-67 es <5%, parámetro que se relaciona con el lento crecimiento típico de estos tumores²⁰⁵. La expresión de progesterona y el hecho de que las SPN se dan mayoritariamente en mujeres

sugiere una relación hormonal, aunque no se suelen detectar receptores estrogénicos²⁷⁰. En el estudio molecular del líquido se caracterizan por mutaciones en *CTNNB1* pero no en *KRAS*, *GNAS*, *RNF43* ni en *VHL*¹⁴⁰.

Su potencial de malignidad es bajo, en torno al 15 % y además suelen presentar un crecimiento lento, pero debido a que el diagnóstico suele darse en paciente relativamente jóvenes, con bajo riesgo quirúrgico, el tratamiento de elección es la resección quirúrgica. En ocasiones es posible realizar enucleación del tumor debido a la cápsula fibrosa²⁴⁴. El pronóstico, sobretudo en aquellos casos en los que se alcanza la resección completa, es muy bueno con una supervivencia a los 5 años superior al 95%²⁴⁴. No obstante, se ha descrito recurrencia hasta en el 10% de los pacientes tras 5 años del tratamiento por lo que se recomienda continuar con el seguimiento. Factores relacionados con riesgo de recurrencia son la invasión linfovascular, la presencia de metástasis sincrónicas y la invasión local de la cápsula tumoral²⁷¹.

- **TUMOR NEUROENDOCRINO PANCREÁTICO CON DEGENERACIÓN QUÍSTICA**

Los tumores neuroendocrinos pancreáticos son neoplasias infrecuentes, que suponen el 1-2 % de todas las neoplasias del páncreas. Pueden presentar componente quístico en el 0,7 y el 15 %²⁷². Entre las lesiones quísticas pancreáticas, los tumores neuroendocrinos son un diagnóstico infrecuente aconteciendo en menos de un 8 % de las mismas²⁴⁸.

Son igual de frecuentes en ambos sexos y la edad media al diagnóstico está en torno a la sexta década. Generalmente van a ser tumores únicos no funcionantes, aunque pueden ser multifocales^{205,273}. Pueden presentarse en pacientes con neoplasia endocrina múltiple tipo 1 y en pacientes con síndrome VHL.

Radiológicamente se presentan como lesiones quísticas con borde hipervascular y ocasionalmente con septos y/o componente sólido en su interior. Es posible encontrar degeneración microquística de tumor sólido neuroendocrino, aunque en ocasiones nacen de un quiste de pared delgada siendo en estos casos difícil de diferenciar de las NQM. De hecho, la mayoría son indistinguibles de otras NQP por lo que es recomendable completar el estudio con USE-PAAF²⁷³.

El análisis del líquido muestra niveles de CEA bajos. La citología va a ser diagnóstica en una mayor proporción de casos que en otras NQP (73% vs 20%)²⁷⁴.

Se consideran lesiones premalignas que requieren seguimiento o resección, habiéndose descrito malignidad hasta en el 10% de los TNE quísticos intervenidos²⁷⁵. Según las guía Europea³⁰ y de la Sociedad Europea de Tumores Neuroendocrinos²⁷⁶ se recomienda la resección quirúrgica si presentan un tamaño $\geq 20\text{mm}$.

3. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

3.1.HIPÓTESIS

La precisión diagnóstica para identificar las neoplasias quísticas pancreáticas malignas y premalignas (mucinosas) exclusivamente mediante las características clínicas y criterios morfológicos es subóptima. El empleo de ecopotenciadores y la USE-PAAF con realización de análisis bioquímico, citológico y molecular del contenido quístico podría aumentar la precisión diagnóstica.

3.2.OBJETIVO PRINCIPAL

- Evaluar la rentabilidad diagnóstica del análisis molecular para la identificación de las neoplasias quísticas pancreáticas.

3.3.OBJETIVOS SECUNDARIOS

- Evaluar la rentabilidad diagnóstica del análisis molecular para la detección neoplasias quísticas pancreáticas malignas.
- Valorar la seguridad de la USE-PAAF en el estudio de las lesiones quísticas pancreáticas.
- Determinar los factores epidemiológicos relacionados con estirpe mucinosa y con malignidad
- Utilidad de los criterios morfológicos por USE para el diagnóstico de neoplasias quísticas pancreáticas y para la detección de malignidad
- Evaluar la influencia de la USE-PAAF sobre la decisión de seguimiento o tratamiento de las neoplasias quísticas pancreáticas basado en criterios morfológicos radiológicos
- Papel de los ecopotenciadores como predictores de malignidad y del tipo de neoplasias quísticas pancreáticas
- Utilidad de los parámetros bioquímicos (CEA y glucosa) para la detección de quistes de estirpe mucinosa
- Utilidad de la tinción de mucinas para el diagnóstico de quistes de estirpe mucinosa

4. MATERIAL Y MÉTODOS

4.1. POBLACIÓN

Estudio prospectivo observacional de pacientes con lesiones quísticas pancreáticas identificadas previamente por técnicas de radiodiagnóstico (ecografía abdominal, TC o RM) o por USE, con indicación de punción según la práctica clínica habitual para análisis del contenido intraquístico.

4.2. DISEÑO DEL ESTUDIO

Se incluyeron de forma prospectiva y consecutiva todos los pacientes con indicación de USE-PAAF remitidos a la Unidad de Endoscopias del Hospital Universitario La Princesa para el estudio de lesiones quísticas pancreáticas. Se realizó USE-PAAF siguiendo la evidencia científica actual, que incluye las siguientes indicaciones como criterios de inclusión:

- Tamaño $\geq 15\text{mm}$
- Necesidad de confirmar el diagnóstico previo a realizar un tratamiento quirúrgico
- Hallazgos preocupantes por imagen: engrosamiento mural, conducto pancreático principal dilatado $\geq 5\text{mm}$, nódulo mural sin realce, cambio abrupto del calibre del conducto pancreático principal
- Cambios por imagen durante el seguimiento
- Aumento del CA 19,9 sérico

Los criterios de exclusión fueron:

- Edad < 18 años
- Embarazo
- Contraindicaciones generales del procedimiento endoscópico
- Lesión fuera del alcance de punción guiada por ecoendoscopia
- Quistes con localización extrapancreática
- Estudio previo mediante USE-PAAF
- Pacientes en los que el estudio con punción no modificaría la actitud posterior al procedimiento
- Tratamiento activo con anticoagulantes o antiagregantes
- Presencia de trombopenia o coagulopatía en ausencia de su corrección previa al

procedimiento

- Voluntad expresada de no participar en el estudio con rechazo al consentimiento informado

TAMAÑO MUESTRAL

En la actualidad la prueba diagnóstica de referencia para el estudio de los quistes pancreáticos es la citología, con una sensibilidad en torno al 50%. Además, sólo el 0,01% de los pacientes presentan malignidad en el momento del diagnóstico. Asumiendo que con el empleo de marcadores moleculares es posible aumentar la sensibilidad hasta el 84%, con una potencia del 80% y un nivel de confianza del 95%, la muestra necesaria fue de 36 pacientes (Cálculo realizado con el programa EPIDAT 3.1 desarrollado por la Consellería de Sanidade de la Xunta de Galicia).

TÉCNICA ENDOSONOGRÁFICA

Se realizó USE, USE-CE y USE-PAAF bajo sedación profunda por anestesista a todos los pacientes incluidos. Este procedimiento fue realizado en todos los casos por el mismo ecoendoscopista experto (> 500 procedimientos anuales).

INFORMACIÓN AL PACIENTE Y CONSENTIMIENTO INFORMADO

Todos los pacientes fueron informados y se solicitó su consentimiento para la participación en el estudio verbalmente y mediante la cumplimentación del Consentimiento Informado (**Anexo A**). Este estudio fue aprobado por el Comité Ético de la Investigación con medicamentos (CEIm) del Hospital Universitario de La Princesa el 8 de junio de 2017 (nº registro 3092) (**Anexo B**) y registrado en Clinical Trials (Identificador: NCT03740360).

4.3. PROTOCOLO

PREPARACIÓN DEL PACIENTE

Previo a la realización del procedimiento el médico endoscopista determinó si el paciente era candidato para ser incluido en el estudio, informó detenidamente al paciente, resolviendo todas sus dudas y le dio la oportunidad de participar. Si el paciente

aceptó participar verbalmente se entregó el consentimiento informado que, en caso de mostrarse conforme, lo cumplimentó y firmó previo a la realización de la USE.

A continuación, se procedió a monitorizar al paciente y a canalizar una vía periférica de grueso calibre por la que se administró la sedación y el contraste ecográfico. El procedimiento se llevó a cabo bajo sedación profunda administrada por un anestesista experto y asistido por personal de enfermería entrenado en este procedimiento.

TÉCNICA DE ECOENDOSCOPIA

Se realizó USE con el ecoendoscopio lineal (GF-UCT 180; Olympus Co., Japan) y la consola ecográfica (EVIS-EUS UE-ME2, Olympus CO., Japan) que permitió la obtención de imágenes en modo B y la realización de USE-CEH para valorar detenidamente la glándula pancreática. Se localizó el extremo distal del ecoendoscopio en la segunda porción duodenal para valorar la cabeza y el proceso uncinado pancreático. Posteriormente localizando el transductor en el antro gástrico, hacia la cara posterior de la curvatura menor, se examinaron el cuerpo y cola pancreáticos. Una vez localizada la lesión se procedió a la evaluación de sus características morfológicas endosonográficas. Tras haber explorado el área de interés se examinó con el empleo de ecocontraste previo ajuste del Índice Mecánico ($<0,4$). Se ajustó la configuración de la pantalla a modo armónico para permitir la visualización simultánea de la lesión en modo B y con el empleo de USE-CEH. Posteriormente se procedió a administrar en bolo por vía endovenosa 2,5ml del contraste ecográfico de segunda generación compuesto por hexafluoruro de azufre (Sonovue®) y se examinó la lesión con especial interés en sus regiones sospechosas. Todos los procedimientos fueron grabados para su reevaluación detenida posterior. Se definieron 3 patrones de contraste según la captación de paredes y septos: hipercaptante, hipo/isocaptante y patrón mixto de captación.

Se realizó una descripción de las lesiones y clasificación por el endosonografista experto basadas principalmente en las principales guías de práctica clínica (ver **tabla 6**):

- Criterios endosonográficos compatibles con malignidad:
 - Infiltración de estructuras adyacentes
 - Adenopatías con criterios endosonográficos patológicos: hipoecoicas, redondeadas, $> 10\text{mm}$
 - Dilatación del CPP $\geq 10\text{mm}$

- Presencia de nódulo mural con captación de contraste ≥ 5 mm
- Criterios endosonográficos de sospecha:
 - Tamaño ≥ 30 mm
 - Afectación o comunicación directa con el CPP
 - Dilatación 5-9 mm del CPP
 - Presencia de nódulo sólido con captación de contraste < 5 mm
 - Hipoecogenicidad periférica en semiluna
 - Crecimiento ≥ 5 mm respecto a la exploración previa

PUNCIÓN DE LA LESIÓN QUÍSTICA Y PROFILAXIS ANTIBIÓTICA

Una vez realizada la USE-CEH se realizó USE-PAAF previa administración de una dosis de ciprofloxacino 400mg iv como profilaxis antibiótica del procedimiento. En pacientes alérgicos a quinolonas y tras la alerta acerca del uso de las quinolonas por la AEMPS se sustituyó por una dosis de ceftriaxona 2g iv. Posteriormente se pautaron 3 días adicionales de tratamiento con ciprofloxacino 500 mg cada 12 horas o cefixima 400mg diarios respectivamente. La punción se realizó con agujas de 22G de Boston® (Expert Slimline). Éstas contienen en su interior un estilete que evita la contaminación durante el proceso de punción y que fue retirado una vez la aguja se localizó en el interior de la lesión a estudio. Se conectó una jeringa con sistema de vacío al extremo proximal del dispositivo con el que se realizó aspiración mediante presión negativa permitiendo el paso del contenido del quiste a su interior. La punción se realizó en un único pase y se aspiró la totalidad del contenido siempre que fue posible. Se dirigió la aspiración a la pared del quiste una vez colapsado con la finalidad de obtener muestras de citología con mayor cantidad de material celular. El contenido aspirado del quiste fue enviado para su análisis según la descripción posterior. En caso presentar componente sólido o masas adyacentes se realizó punción en un segundo tiempo remitiendo dicha muestra para análisis citológica adecuadamente identificada. Se registraron tanto las complicaciones inmediatas como las diferidas mediante entrevista telefónica a las 72 horas del procedimiento. Se preparó un documento para la recogida sistemática de toda la información (Anexo 1).

Con el líquido obtenido se realizó:

1. ANÁLISIS CITOLÓGICO: La citología y, en caso de obtenerse, el análisis histológico de la pieza quirúrgica se consideran el patrón oro para el diagnóstico de las neoplasias quísticas pancreáticas. Tras la extracción del líquido este fue dispuesto y extendido en hileras de cristales numerados. 2/3 de los cristales fueron remitidos mediante fijación en seco y 1/3 fijados en alcohol de 96 grados al Servicio de Anatomía Patológica. Las muestras fijadas en seco se tiñeron con Diff-Quik y aquellas fijadas en alcohol con Papanicolaou. Las muestras fijadas en alcohol pudieron ser teñidas con azul alcian al 1% y se empleó el sistema automático DakoCytomation (código AR160) para la detección de mucinas. Las muestras fueron valoradas por dos citopatólogos expertos mediante microscopía óptica. El patólogo desconocía la sospecha diagnóstica por métodos de imagen (radiodiagnóstico y USE). En caso de disponer de componente sólido y componente líquido esto fue especificado en las muestras remitidas y se analizó de forma separada. Las muestras fueron clasificadas según la clasificación de Papanicolaou y se especificó si la tinción con azul alcian para la detección de mucinas fue positiva o negativa.

2. ANÁLISIS BIOQUÍMICO: Se remitió al menos 1 ml del líquido para realizar análisis de niveles de amilasa tomando como punto de corte para excluir pseudoquiste 250 U/L y CEA con punto de corte 192ng/ml para diferenciar quistes de estirpe mucinosa. La determinación de la amilasa se realizó en nuestro centro mediante el sistema Roche/Hitachi (Cobas C8000, módulo 701) calibrado para suero, mediante colorimetría enzimática; los niveles de CEA también se determinaron en nuestro centro con el sistema Architect por inmunoanálisis quimioluminiscente.

Durante el estudio se incluyó el análisis de las cifras de glucosa como ampliación del protocolo en relación a su utilidad según la evidencia actual para el diagnóstico de quistes de estirpe mucinosa si los niveles son < 50mg/dl (ver apartado de evidencia previa). Se realizó dicho análisis en 16 de las lesiones incluidas.

3. ANÁLISIS MOLECULAR: Tras la realización del análisis citológico y bioquímico el líquido restante se alicuotó y congeló a -80 °C hasta su utilización. El rango de

volúmenes disponible para el análisis molecular fue 0,3-5 ml.

Las muestras fueron custodiadas en las instalaciones de Hospital Universitario de la Princesa en la colección del Dr. Cecilio Santander Vaquero (Servicio de Digestivo del Hospital de la Princesa). Dicha colección fue inscrita el Registro Nacional de Biobancos (Sección de Colecciones) de colecciones del Instituto de Salud Carlos III (ISCIII)/Ministerio de Competitividad y Economía. El remanente fue guardado en el biobanco, con la autorización de los pacientes, para posibles futuras determinaciones en otros proyectos de investigación.

Tras comparar los resultados obtenidos con distintos kits de purificación de ADN, el ADN genómico presente en el líquido de los quistes pancreáticos se purificó manualmente utilizando el kit NZY Blood gDNA Isolation kit (NZYtech) siguiendo las recomendaciones del fabricante. El ADN extraído se cuantificó fluorimetricamente utilizando el sistema Quantus (Promega). La integridad del ADN obtenido se analizó en el Agilent 2100 Bioanalyzer (Agilent) utilizando el kit Agilent High Sensitivity DNA (Agilent). Debido a las bajas concentraciones de ADN obtenidas con algunas muestras, éste se concentró hasta una concentración de 30ng/ul, usando bolas magnéticas (AMPure XP beads, Beckman Coulter). La secuenciación génica dirigida (targeted Next-Generation Sequencing- tNGS) se realizó en la plataforma de MiSeq™ (Illumina) utilizando un panel diseñado específicamente para este proyecto (Roche).

Diseño bioinformático del panel de genes incluidos en el estudio

Los genes secuenciados se seleccionaron de acuerdo a las tres publicaciones de especial relevancia existentes sobre el tema^{18,128,134}. Los genes secuenciados son *AKT1*, *ALK*, *APC*, *BRAF*, *CDKN2A*, *CDH1*, *DDR2*, *EGFR*, *ERBB2*, *ESR1*, *FBXW7*, *FGFR1*, *FGFR2*, *FGFR3*, *FOXL2*, *GNA11*, *GNAQ*, *GNAS*, *HRAS*, *IDH1*, *IDH2*, *KIT*, *KRAS*, *MAP2K1*, *MET*, *NOTCH1*, *NRAS*, *PDGFRA*, *PIK3CA*, *PIK3R1*, *PTEN*, *RET*, *ROS1*, *SMAD4*, *TP53*, *VHL*, *RNF43*, *CTNNB1*, *TGFBR2*. Se incluyeron todos los exones de los genes estudiados por lo que la cobertura fue completa.


Las sondas utilizadas para la amplificación de todas las zonas codificantes de los genes (exones) se diseñaron utilizando el programa bioinformático NimbleDesign (<https://design.nimblegen.com/nimbledesign>, © 2017 Roche NimbleGen, Inc de


Roche).

Con el fin de proporcionar cobertura el conjunto de sondas contiene hasta 20 coincidencias en el genoma, según lo determinado por el algoritmo SSAHA (<https://www.sanger.ac.uk/science/tools/ssaha>).

Consideramos que una sonda coincide en el genoma si hay cinco o menos inserciones, deleciones o sustituciones de una sola base entre la sonda y el genoma. La gran mayoría de las sondas son únicas y tienen un tamaño medio de 105 bases. El resumen de los resultados del diseño se encuentra en la plataforma NIMBLEGEN, utilizando las herramientas NIMBLEDESIGN (Roche) [Figura 10].

Figura 10: Resumen del diseño de las sondas utilizadas en tNGS





Design Report: Panc_quist_v1

User Information

Name: ijsalenu

Email: inigo.salanueva@roche.com

Design Information

IRN: 0200416636
 Customer Design Identifier: Panc_quist_v1
 Organism: Homo sapiens
 Final Design Identifier: 101213_HQ36_Panc_quist_v1_EZ_HX3
 Genome Build: hg38/GRCh38 (Dec 2013)
 Application: SeqCap EZ
 Format: SeqCap EZ Choice (<= 7Mb)
 Description: Coding exons plus minus 20 bp

Consolidation Report - Overlapping Regions

Initial Regions Count: 693
 Final Regions Count: 619
 Initial Sequence Total: 147,553
 Final Sequence Total: 132,577

Parameters

Probe Selection Database: hg38/GRCh38, Homo sapiens
 Preferred Close Matches: 3
 Maximum Close Matches: 20

Statistics

	<i>Probe Coverage</i>	<i>Estimated Coverage</i>
Target Bases Covered:	131,214	132,466
% Target Bases Covered:	99	99.9
Target Bases Not Covered:	1,363	111
Due to Ns	0	0
Due to Repeats	475	103
% Target Bases Not Covered:	1	0.1
Due to Ns	0	0
Due to Repeats	0.4	0.1

Generación de librería para secuenciación

La librería que será posteriormente secuenciada se realizó según el protocolo SeqCap EZ HyperCap (Roche). En una primera fase del procedimiento llevamos a

cabo la fragmentación, reparación de extremos, ligación de adaptadores y amplificación con el sistema Kappa Hyperplus. En una segunda fase, realizamos la captura de las secuencias de interés utilizando el sistema Seq Cap EZ Probe, mediante hibridación de sondas y selección de tamaño con bolas magnéticas. Posteriormente la librería capturada se cuantificó fluorimetricamente con Quantus y se analizó su calidad con Bioanalyzer como se ha comentado anteriormente. Después se procedió a la secuenciación para la cual se utilizó un cartucho MiSeq Reagent Kit v3 (150cycle) (Illumina). Como control de secuenciación, se realizó una librería del fago PhiX (comúnmente utilizada en equipos de Illumina). Tanto la librería de ADN de quistes pancreáticos como la de PhiX se desnaturalizaron con NaOH 0,2N durante 5 minutos a temperatura ambiente y se diluyó con tampón de hibridación HT1 (MiSeq Reagent kit v3) a 8pM y 1 % de PhiX. Posteriormente la mezcla de librerías se cargó en el cartucho y se procedió a la secuenciación en un secuenciador MiSeq de Illumina mediante *paired end sequencing* (secuenciación por extremos pareados) (2X75).

Análisis datos NGS

Los datos se analizaron a distintos niveles:

- **Primario: Control de calidad de las secuencias generadas**

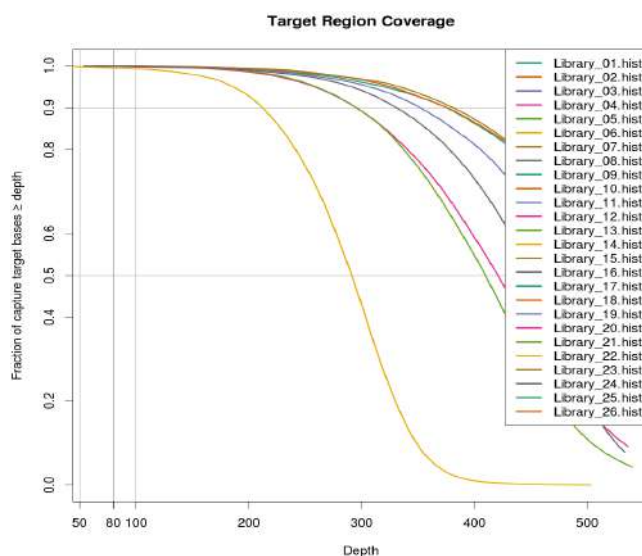
El estudio de calidad fue realizado mediante programa FastQC (https://kbase.us/applist/apps/kb_fastqc/runFastQC/release?gclid=CjwKCAiArJivBRACEiwA-Wiqq0-D5QE DnZ 6AMj7owt3D 8u4JxvDAIHk-xehD9Ud9PfyDamdcg_hoC6gEQAvD BwE). Las lecturas no presentaron rastros de adaptadores observándose una calidad óptima por lo que no se efectuó ningún procesamiento adicional.

- **Secundario: Identificación de secuencias y variantes**

Las lecturas fueron mapeadas frente a la última versión del genoma humano GRCh38 publicada desde el Genome Reference Consortium el 17 de Diciembre de 2013 (GRch38/hg38; https://www.ncbi.nlm.nih.gov/assembly/GCF_000001405.26/), utilizando el programa Bowtie2 (<http://bowtie-bio.sourceforge.net/bowtie2/index.shtml>).

Posteriormente, también fueron visualizadas con el programa Integrative Genomics Viewer (IGV) (Broad Institute, <http://software.broadinstitute.org/software/igv/>) utilizando los parámetros que aparecen por defecto en la aplicación para confirmar la especificidad del mapeo hacia los genes diana. El análisis de cobertura (**Figura 11**) indica que prácticamente el 100% de las regiones está cubierta a una profundidad de 100x o superior en la totalidad de las muestras, llegando al 400X en un porcentaje muy alto de las mismas. La búsqueda de variantes se realizó con el programa VarScan (<http://varscan.sourceforge.net/>) restringiendo la región de análisis a las coordenadas definidas por el panel de captura. Entre las variantes identificadas, aproximadamente 400, se descartaron aquellas presentes en más del 75% de las muestras, y que no aparecían como mutaciones anotadas en las bases de datos utilizadas, dado que no es previsible que participen en el desarrollo de la enfermedad. Por lo tanto, el número total de variantes obtenidas fue de 377 (con una media de 15 variantes por muestra). Posteriormente, se eliminaron del estudio las variantes con muy baja frecuencia (< 2 lecturas) dado que éstas podrían ser, con una alta probabilidad estadística, errores en la secuenciación que deben ser corregidos. Para el análisis final se incluyeron las variantes detectadas con una frecuencia entre 1%-33%, quedando un total de 78 variantes detectadas en las 25 muestras analizadas (media de 3 mutaciones por muestra).

Figura 11: Análisis de cobertura



- **Terciario: Comparación entre muestras e identificación de patogenicidad de variantes**

La precisa identificación y clasificación de las variantes obtenidas en la secuenciación (deletéreas vs no deletéreas) se realizó utilizando la herramienta PredictSNP2 (<https://loschmidt.chemi.muni.cz/predictsnp2/referencia>). PredictSNP2 es un clasificador de consenso basado en 5 de las herramientas más utilizadas y de acceso libre para la predicción de la patogenicidad de variantes genéticas en humanos (Tabla 9). Además, la información de las herramientas predictoras se combinó con los resultados de la búsqueda en la base de datos de ClinVar, que contiene la interpretación anotada de la relación entre las variantes y su significación para la salud humana. En la mayoría de los casos existe información recogida en esa base de datos que la asocia a uno o más SNP de referencia o bien a una posición recogida en bases de datos oncológicas (HGMD o COSMIC). Tras la identificación las variaciones y los porcentajes en que se presentan en los diferentes pacientes se concluyó que la patogenicidad era positiva cuando así era identificada en al menos 4 de las 6 herramientas utilizadas (Tabla 10).

Tabla 9: Herramientas en las que se basa el clasificador PredictSNP2

Nombre de la herramienta	Versión
CADD	1.2
DANN	14-11-2014
FATHMM	25-02-2015
FunSeq2	2.1.2
GWAVA	1.0

CADD: Combined Annotation Dependent Depletion; **DANN** (Deep Algorithm Neural Network); **FATHMM** (Functional Analysis through Hidden Markov Models); **GWAVA** (Genome Wide Annotation of Variants)

Tabla 10: Herramientas empleadas para establecer la patogenicidad de una mutación

Nombre de la herramienta	
CADD DANN FATHMM FunSeq2 GWAVA ClinVar	Mutación patogénica si positive en $\geq 4/6$

CADD: Combined Annotation Dependent Depletion; **DANN** (Deep Algorithm Neural Network); **FATHMM** (Functional Analysis through Hidden Markov Models); **GWAVA** (Genome Wide Annotation of Variants)

CRITERIOS DIAGNÓSTICOS DE MALIGNIDAD/BENIGNIDAD

Para establecer el diagnóstico final de malignidad se emplearon los siguientes criterios estándar²⁷⁷:

- 1) Malignidad citológica en la punción por ecoendoscopia
- 2) Malignidad en la pieza quirúrgica en pacientes intervenidos: displasia de alto grado o carcinoma invasivo
- 3) Progresión de la lesión y/o enfermedad metastásica en el seguimiento mediante pruebas de imagen
- 4) Muerte relacionada con complicaciones neoplásicas hasta 6 meses después del diagnóstico de la masa
- 5) Seguimiento clínico compatible con enfermedad tumoral subyacente durante 6 meses

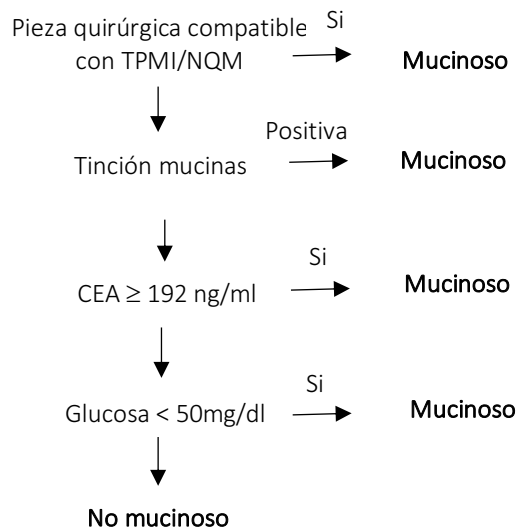
Y en contraposición se asumirá benignidad en los siguientes casos:

- 1) Muestra intraoperatoria o pieza quirúrgica sin malignidad
- 2) Estado general clínicamente favorable sin repercusión general 12 meses tras el diagnóstico
- 3) Seguimiento estable o regresión de la lesión mediante técnicas de imagen

Ante la ausencia por tanto de diagnóstico histopatológico definitivo, se configuró un “*pseudo-goldstandar*” (PsGs) en base a la evidencia previa disponible y a las recomendaciones de las guías de práctica clínica^{3,13,30,31}, que se expone en la **figura 12** para clasificar los quistes en mucinosos y no mucinosos combinando los resultados citohistopatológicos, en caso de disponerse, tinción de mucinas y bioquímicos:

- a) PsGs positivo (mucinoso): histología mucinosa y/o tinción de mucinas positivo y/o CEA > 192 ng/dl y/o glucosa < 50mg/dl
- b) PsGs negativo (no mucinoso): histología no mucinosa, tinción de mucinas negativa, CEA < 192 ng/dl y glucosa > 50mg/dl

Figura 12: Algoritmo diagnóstico de quistes mucinosos y no mucinosos



TPMI: tumor papilar mucinoso intraductal; NQM: neoplasia quística mucinosa

4.4.REGISTRO DE LA INFORMACIÓN

Se registraron para el posterior análisis estadístico los siguientes datos, recogidos en hoja de datos propuesta (Anexo A):

- **Características del paciente:** fecha de nacimiento, edad, sexo, riesgo anestésico (ASA), tratamiento activo con anticoagulantes o antiagregantes, antecedentes de neoplasia o de episodios de pancreatitis aguda, forma de presentación (síntomática/asintomática) tabaquismo, antecedentes familiares de cáncer de páncreas
- **Juicio diagnóstico radiológico:** maligno o no agresivo
- **Procedimiento USE:**
 - Fecha
 - Juicio diagnóstico por USE: criterios de malignidad, criterios de sospecha, sin criterios de sospecha
 - Criterios morfológicos: localización, tamaño, multifocalidad, diámetro del conducto pancreático principal, dilatación del conducto pancreático principal, presencia de nódulo mural
 - Patrón de captación de contraste: paredes hipercaptantes, paredes

hipo/isocaptantes, patrón mixto

- Complicaciones
- **Análisis del líquido:**
 - Bioquímica: niveles de CEA (ng/ml), amilasa (U/L) y glucosa (mg/dl)
 - Anatomía patológica: clasificación de Papanicolaou (I-VI) y determinación de presencia de mucinas (positivo o negativo)
 - Marcadores moleculares:
 - Posibilidad de realizar su determinación: si/no
 - Presencia/ausencia de mutaciones: *AKT1, ALK, APC, BRAF, CDKN2A, CDH1, DDR2, EGFR, ERBB2, ESR1, FBXW7, FGFR1, FGFR2, FGFR3, FOXL2, GNA11, GNAQ, GNAS, HRAS, IDH1, IDH2, KIT, KRAS, MAP2K1, MET, NOTCH1, NRAS, PDGFRA, PIK3CA, PIK3R1, PTEN, RET, ROS1, SMAD4, TP53, VHL, RNF43, CTNNB1, TGFB2*.
- **Cirugía:**
 - Intervención quirúrgica: si/no
 - Diagnóstico quirúrgico
- **Seguimiento:** crecimiento, desarrollo de características de malignidad, éxitos relacionados
- **Malignidad:** si/no

4.5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se ha realizado un análisis descriptivo, tomando medidas de tendencia central: media y/o mediana para aquellas variables cuantitativas y de dispersión: desviación típica y/o percentiles. Para variables cualitativas se muestran frecuencias y proporciones.

Para la comparación de proporciones se ha realizado el test chi-cuadrado o el test de exacto de Fisher donde era necesario.

Para la comparación entre grupos de variables cuantitativas se ha utilizado la prueba T de Student o la prueba de Mann-Whitney en caso de incumplimiento del supuesto de normalidad.

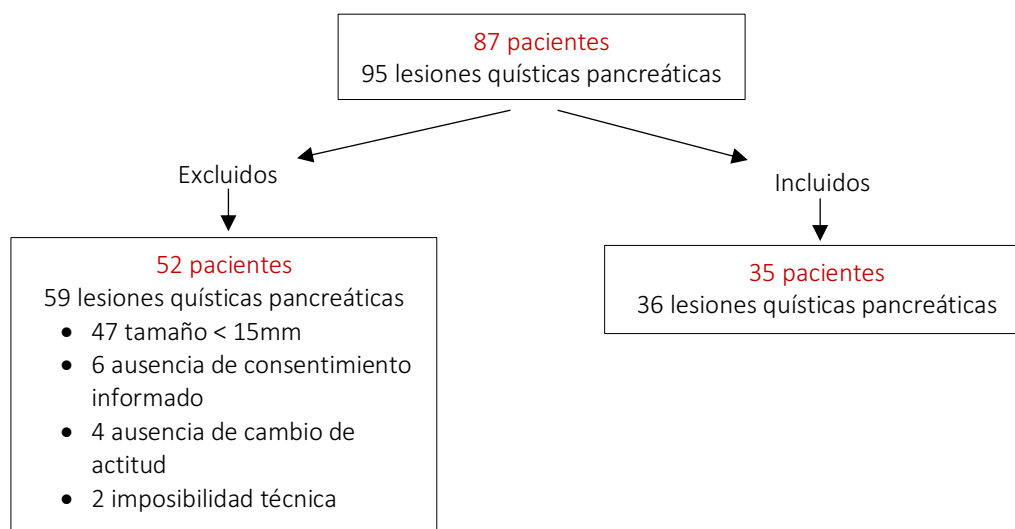
Se ha estudiado mediante curvas COR la capacidad del CEA y glucosa para clasificar los quistes como mucinosos y no mucinosos. El grado de acuerdo alcanzado entre variables diagnósticas se ha estudiado por medio de la kappa de Cohen. Se han determinado la sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y valor predictivo negativo de las variables diagnósticas respecto al *pseudo-gold standard* establecido en el estudio. Se consideran significativos los valores $p \leq 0,05$. Todos los análisis se han realizado con el programa IBM SPSS 23.0 o Stata v13.0.

5. RESULTADOS

5.1. CARACTERÍSTICAS DE LOS PACIENTES

Se reclutaron de forma prospectiva y consecutiva 87 pacientes, contabilizando 95 lesiones quísticas pancreáticas, que fueron remitidos a la Unidad de Endoscopias del Hospital Universitario de La Princesa con indicación de realizar USE entre los meses de junio 2017 y diciembre 2018 (18 meses). Tras aplicar los criterios de exclusión 52 pacientes, con un total de 59 lesiones quísticas pancreáticas, fueron excluidos. Los motivos de exclusión fueron los siguientes: 47 lesiones presentaban un tamaño < 15mm, 6 lesiones por ausencia de consentimiento informado, 4 por ausencia de modificación de la actitud a seguir en caso de realizarse punción y 2 lesiones por incapacidad o ausencia de seguridad técnica para alcanzar la lesión, estando en uno de esos casos limitado por interposición de neoplasia gástrica. Finalmente se alcanzó el tamaño muestral estimado inicialmente consistente en 35 pacientes que presentaron un total de 36 lesiones quísticas. El proceso de inclusión de pacientes se expone de forma esquemática en la **figura 13**.

FIGURA 13: Proceso de inclusión de pacientes



Las características basales de los pacientes incluidos se muestran en la **tabla 11**. La edad media fue de $66,7 \pm 14,5$ años. El 48,6% ($n = 17$) de nuestra población fueron varones. Los pacientes incluidos en su mayoría pertenecieron a grupos de bajo riesgo anestésico (ASA I-II 71,4%). El 14,3% de nuestra población estaba en tratamiento con antiagregantes (ácido acetil salicílico) en monoterapia que no fue preciso suspender previo al procedimiento. En ningún caso hubo que modificar el tratamiento del paciente previo al procedimiento por ausencia de tratamiento con anticoagulantes o doble antiagregación. El 28,6% de los pacientes se encontraban sintomáticos en el momento de la solicitud de la exploración. En cuanto a los antecedentes personales, un 34,3% presentaban antecedente de tabaquismo, el 8,6% antecedente de pancreatitis aguda y el 28,6% antecedente de neoplasia maligna extrapancreática curada, en remisión o con tratamiento activo. Adicionalmente, un 8,6% presentaba antecedente familiar de cáncer de páncreas.

Tabla 11: Datos demográficos y clínicos de la población a estudio

n	35
Edad (años)	$66,7 \pm 14,5$
Sexo masculino	17 (48,6%)
ASA I-II	25 (71,4%)
AAS	5 (14,3%)
Tabaquismo	12 (34,3%)
Antecedente de pancreatitis aguda	3 (8,6%)
Antecedente de neoplasia extrapancreática	10 (28,6%)
Antecedente familiar de cáncer de páncreas	3 (8,6%)
Síntomas	10 (28,6%)

Las variables cuantitativas se expresan como media y desviación estándar de la media. Las variables cualitativas se expresan como valores absolutos; entre paréntesis se indica su proporción respecto al total de la muestra.

5.2. CARACTERÍSTICAS DE LAS LESIONES

De las lesiones quísticas incluidas ($n = 36$), 7 (19,4%) fueron definidas por técnicas de radiodiagnóstico (TC y/o colangioRM) como malignas y las 29 (80,6%) restantes como no agresivas. Mediante criterios exclusivamente morfológicos mediante USE 4 (11,1%) fueron catalogadas como malignas, 9 (25%) como TPMI-RL, 14 (38,9%) como TPMI-CP, 5 (13,9%) como NQM y 4 (11,1%) como NQS. Además, en la mitad de las lesiones ($n = 18$; 50%) se definieron criterios endosonográficos de sospecha. 21

quistes se localizaron en la cabeza o proceso uncinado pancreáticos (58,3%) y los 15 restantes (41,7%) en el cuerpo pancreático. El tamaño medio fue de $27 \pm 15,5$ mm. En 8 (22,9%) de los pacientes se detectaron al menos dos quistes en la glándula pancreática definiéndose dicho hallazgo como multifocalidad. 11 (30,6%) de las lesiones asociaron una dilatación del CPP > 3 mm.

En relación al patrón de contraste se realizó USE-CE en 32 pacientes (33 lesiones), no siendo posible su empleo en los 3 pacientes (3 lesiones) restantes por presentar contraindicaciones relativas (antecedente de infarto agudo de miocardio) para su administración. Las lesiones quísticas presentaron los siguientes patrones de captación de contraste: 18 (54,5%) paredes hipocaptantes o isocaptantes, 12 (36,4%) paredes hipercaptantes y 3 (9,1%) lesiones con patrón de captación mixto con áreas hipocaptantes e hipercaptantes. La USE detectó la presencia de nódulo mural en 8 (22,2%) de las lesiones, con un tamaño medio de $5,5 \pm 1,6$ mm. En un paciente con nódulo mural no se aplicaron ecopotenciadores por contraindicación (descrita previamente). Tras la aplicación de ecocontraste en los 7 pacientes restantes tan solo 2 (28,6%) de dichos nódulos captaron contraste (**Figura 14**), siendo el tamaño medio de los mismos $6,35 \pm 1,91$ mm mientras que el tamaño medio de los nódulos que no captaron contraste o en el que no se administro fue de $5,08 \pm 1,68$ mm, no existiendo diferencias significativas. Las características morfológicas de las lesiones se resumen en la **tabla 12**.

Figura 14: Evaluación de nódulos murales

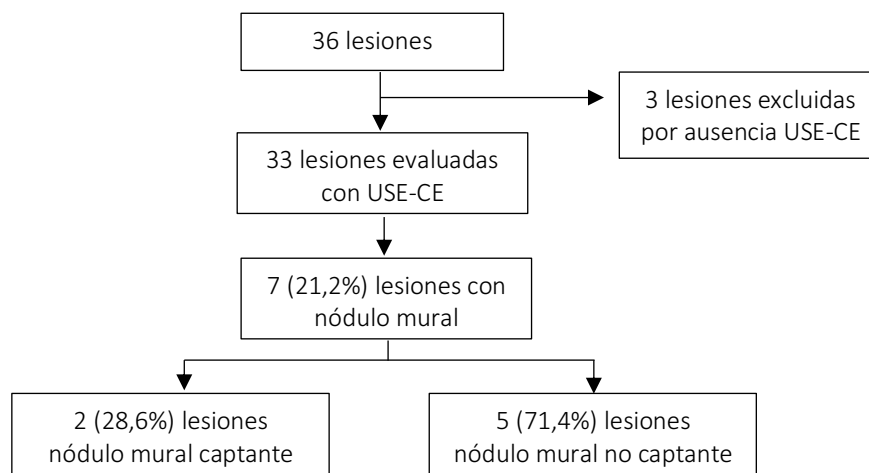


Tabla 12: Características morfológicas generales mediante pruebas de imagen

	n (%)
Prueba de imagen radiológica	
• Maligno	7 (19,4%)
• No agresivo	29 (80,6%)
Diagnóstico por USE	
• Maligno	4 (11,1%)
• TPMI-RL	9 (25%)
• TPMI-CP	14 (38,9%)
• NQM	5 (13,9%)
• NQS	4 (11,1%)
Localización	
• Cabeza/uncinado	21 (58,3%)
• Cuerpo	15 (41,7%)
• Cola	0
Multifocal	8 (22,9%)
Tamaño (mm, media \pm ds)	27 \pm 15,5
Dilatación CPP > 3mm	11 (30,6%)
Nódulo mural	8 (22,2%)
Patrones de captación de contraste en USE	
• Paredes hipo/isocaptantes	18 (54,5%)
• Paredes hipercaptantes	12 (36,4%)
• Componente sólido hipocaptante y paredes hipercaptantes	3 (9,1%)

TPMI-RL: tumor papilar mucinoso intraductal de rama lateral; TPMI-CP: tumor papilar mucinoso intraductal de conducto principal; NQM: neoplasia quística mucinosa; NQS: neoplasia quística serosa; USE: ultrasonografía endoscópica

Las variables cuantitativas se expresan como media y desviación estándar (ds) de la media. Las variables cualitativas se expresan como valores absolutos; entre paréntesis se indica su proporción respecto al total de la muestra.

5.3.RESULTADO DEL ANÁLISIS DEL LÍQUIDO

Se realizó USE-PAAF y análisis del líquido de las 36 lesiones incluidas. No obstante, en algunos casos, debido al volumen de líquido extraído, no fue posible realizar todas determinaciones tal y como se detalla a continuación en los apartados correspondientes. Se expone un resumen con los resultados del análisis del líquido en la **tabla 13**.

- **BIOQUÍMICO**

Se envió líquido para su análisis en el laboratorio solicitando determinación de CEA y amilasa. Tras ampliar el protocolo, a partir del paciente nº15 se midieron también los niveles de glucosa.

- **CEA:** Su determinación se realizó en 29 (80,6%) de las lesiones incluidas. En las 7 (19,4%) restantes no fue posible porque el Servicio de Análisis Clínicos no consiguió determinar sus niveles debido a problemas técnicos asociados a la elevada viscosidad del líquido (n = 1; 14,3%) o por muestra insuficiente (n = 6; 85,7%). Las cifras de CEA fueron < 192 ng/ml en 14 quistes (48,3%) y ≥ 192 ng/ml en los otros 15 (51,7%). La mediana de los niveles de CEA fue de 220 ng/ml (IQR 21,44-3910).
- **Glucosa:** Su determinación fue posible en 16 (72,7%) de las 22 lesiones en las que se solicitó su análisis. Por el mismo motivo que el descrito previamente para el CEA, en las 6 (27,3%) restantes no fue posible por tratarse de un líquido con elevada viscosidad (n = 1; 16,7%) o por muestra insuficiente (n = 5; 83,3%). Las cifras de glucosa fueron < 50 mg/dl en 10 (62,5%) de las muestras y ≥ 50 mg/dl en las otras 6 (37,5%). La mediana de los niveles de glucosa fue de 10 mg/dl (IQR 0-70,5).
- **Amilasa:** Su análisis se realizó en 32 (88,9%) de las lesiones. En uno de los casos (25%) no fue posible realizar su determinación por tratarse de un líquido de elevada viscosidad y en los 3 restantes (75%) por líquido insuficiente. Las cifras de amilasa en 12 (37,5%) de las lesiones fueron < 250 U/L y en los 20 (62,5%) restantes ≥ 250 U/L. La mediana de los niveles de amilasa intraquísticos fue de 1357 (IQR 163,5-15856).

- **CITOLÓGICO**

Tras la realización de USE-PAAF parte del líquido obtenido fue remitido para análisis citológico en extendidos en seco y otros fijados en alcohol de 96° mediante extensión e inmersión rápida con el fin de no producirse artefactos de desecación. Sobre estos últimos se realizó la tinción de mucinas. En todos los casos (100%) fue posible realizar estudio citológico y tinción de mucinas. Los extendidos citológicos fueron clasificados según la clasificación de Papanicolaou

con la siguiente distribución: 13 (36,1%) lesiones fueron clasificadas como negativas (Papanicolaou II), 22 (61,1%) como neoplásicas (Papanicolaou IV) y 1 (2,8%) lesión como citología positiva para malignidad (Papanicolaou VI). Tras realizar tinción con azul alcian para la detección de mucinas 22 (61,1%) quistes presentaron un resultado positivo.

• MOLECULAR

La cantidad media de líquido enviado para realizar análisis molecular fue $2,1 \pm 2,3$ ml. Aunque inicialmente se recogieron líquidos de 36 quistes pancreáticos, tras realizar extracción del ADN en 25 (69,4%) de ellos se obtuvo la cantidad de ADN necesaria para llevar a cabo la secuenciación (100 ng de ADN a una concentración de 30ng/ul). El volumen de líquido obtenido para análisis molecular en los casos en los que fue posible el análisis mutacional fue menor ($1,8 \pm 1,8$ ml) frente el de aquellos en los que no fue posible ($2,7 \pm 3,1$ ml), no habiendo por tanto relación estadísticamente significativa entre el volumen y la posibilidad de realizar análisis molecular.

Se analizaron las mutaciones en los siguientes genes (con cobertura de todos los exones): *AKT1*, *ALK*, *APC*, *BRAF*, *CDKN2A*, *CDH1*, *DDR2*, *EGFR*, *ERBB2*, *ESR1*, *FBXW7*, *FGFR1*, *FGFR2*, *FGFR3*, *FOXL2*, *GNA11*, *GNAQ*, *GNAS*, *HRAS*, *IDH1*, *IDH2*, *KIT*, *KRAS*, *MAP2K1*, *MET*, *NOTCH1*, *NRAS*, *PDGFRA*, *PIK3CA*, *PIK3R1*, *PTEN*, *RET*, *ROS1*, *SMAD4*, *TP53*, *VHL*, *RNF43*, *CTNNB1*, *TGFBR2*. De las muestras en las que fue posible determinar la presencia de mutaciones genéticas, tal y como se expone en la **Tabla 14**, se encontraron mutaciones en *KRAS* en 16 (64%) quistes, *GNAS* en 13 (52%), *PIK3R1* en 1 (4%), *IDH1* en 1 (4%), *PDGFRA* en 3 (12%), *FGFR3* en 2 (8%), *RET* en 1 (4%), *ERBB2* en 1 (4%), *BRAF* en 1 (4%), *TGFBR2* en 1 (4%), *FBXW7* en 1 (4%) y *MAP2K1* en 1 (4%) quiste. En el resto de genes analizados no se encontraron mutaciones.

Tabla 13: Resultados generales del análisis del líquido

BIOQUÍMICO	
CEA (n = 29)	
< 192 ng/ml	14 (48,3%)
≥ 192 ng/ml	15 (51,7%)
Glucosa (n = 16)	
< 50 mg/dl	10 (62,5%)
≥ 50 mg/dl	6 (37,5%)
Amilasa (n = 32)	
< 250 U/L	12 (37,5%)
≥ 250 U/L	20 (62,5%)
CITOLÓGICO	
Clasificación de Papanicolaou (n = 36)	
II	13 (36,1%)
IV	22 (61,1%)
VI	1 (2,8%)
Mucinas (n = 36)	
Positivo	22 (61,1%)
Negativo	14 (38,9%)
MOLECULAR	
Posible	25 (69,4%)
No posible	11 (30,6%)

Las variables se expresan como valores absolutos; entre paréntesis se indica su proporción respecto al total de la muestra en cada caso.

Tabla 14: Genes mutados en el DNA de NQP (n= 25)

GEN MUTADO	Nº QUISTES (%)
<i>KRAS</i>	16 (64%)
<i>GNAS</i>	13 (52%)
<i>VHL</i>	0
<i>TP53</i>	0
<i>CDH1</i>	21 (84%)
<i>PIK3R1</i>	1 (4%)
<i>EGFR</i>	0
<i>ALK</i>	0
<i>NOTCH1</i>	0
<i>GNA11</i>	0
<i>CDKN2A</i>	0
<i>APC</i>	0
<i>FGFR2</i>	0
<i>IDH1</i>	1 (4%)
<i>PIK3CA</i>	0
<i>KIT</i>	0
<i>MET</i>	0
<i>FGFR1</i>	0
<i>ROS1</i>	0
<i>GNAQ</i>	0
<i>PDGFRA</i>	3 (12%)
<i>FGFR3</i>	2 (8%)
<i>RNF43</i>	0
<i>RET</i>	1 (4%)
<i>ERBB2</i>	1 (4%)
<i>DDR2</i>	0
<i>BRAF</i>	1 (4%)
<i>ESR1</i>	0
<i>TGFBR2</i>	1 (4%)
<i>FBXW7</i>	1 (4%)
<i>FOXL2</i>	0
<i>MAP2K1</i>	1 (4%)
<i>AKT1</i>	0
<i>HRAS</i>	0
<i>IDH2</i>	0
<i>NRAS</i>	0
<i>PTEN</i>	0
<i>SMAD4</i>	0
<i>CTNNB1</i>	0

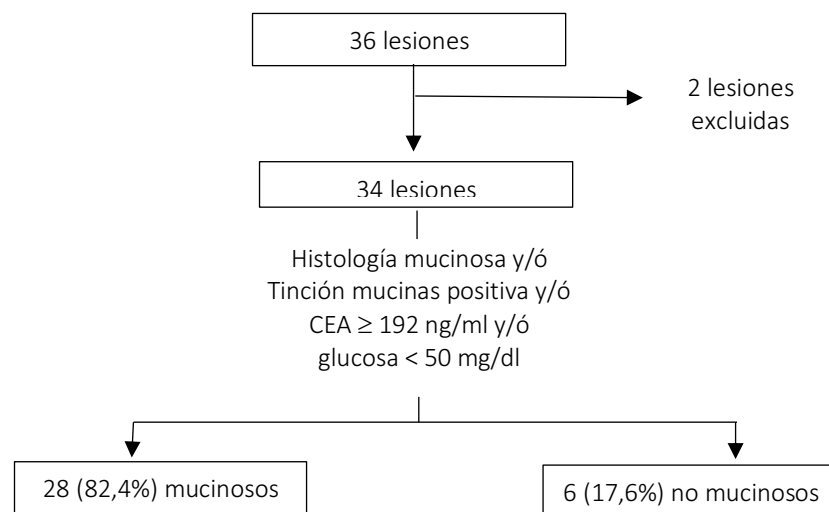
5.4.DECISIÓN TERAPÉUTICA. INDICACIÓN DE TRATAMIENTO QUIRÚRGICO

Finalmente 5 (13,9%) pacientes fueron intervenidos quirúrgicamente tras valoración, indicación realizada en el comité multidisciplinar de nuestro centro y decisión compartida con los pacientes. El diagnóstico histopatológico reveló hallazgos compatibles con pancreatitis crónica con áreas de PanIN1A y PanIN1B en un (20%) caso, en 2 (40%) casos adenocarcinoma asociado a TPPI y en los otros 2 (40%) casos hallazgos compatibles con TPPI con áreas de displasia de bajo grado o PanIN1B. Así pues y según los criterios expuestos previamente sobre la escasa relevancia de la displasia de bajo grado, se consideraron malignos un total de 2 (40%) de las lesiones reseçadas.

5.5.CLASIFICACIÓN DE LAS LESIONES EN MUCINOSAS Y NO MUCINOSAS

Con los resultados obtenidos del diagnóstico histopatológico y del análisis del líquido 34 (94,4%) quistes fueron clasificados en mucinosos y no mucinosos según el algoritmo previamente descrito en el apartado de material y métodos (**figura 12**). En dos casos (5,6%) no fue posible realizar esta clasificación por ser la tinción de mucinas negativa y no disponer adicionalmente de CEA o glucosa. De las 34 lesiones restantes, 28 (82,4%) fueron clasificadas como mucinosas por cumplir al menos uno de los criterios y 6 (17,6%) como no mucinosas. Dichos resultados se exponen en forma de esquema en la **figura 15**.

Figura 15: Clasificación de los quistes en mucinosos y no mucinosos según algoritmo propuesto



5.6.RENTABILIDAD DIAGNÓSTICA DEL ANÁLISIS MOLECULAR PARA LA IDENTIFICACIÓN DE NEOPLASIAS QUÍSTICAS MUCINOSAS Y DE MALIGNIDAD

Fue posible realizar análisis molecular en 18/28 (64,3%) de los quistes clasificados como mucinosos y en 5/6 (83,3%) de los clasificados como no mucinosos (**tabla 15**). Adicionalmente se obtuvo ADN suficiente para su realización en las dos lesiones que, mediante los criterios citológicos y bioquímicos expuestos en el apartado previo, no fue posible clasificar en mucinosas o no mucinosas.

NEOPLASIAS QUÍSTICAS MUCINOSAS

Ninguna de las mutaciones analizadas de forma aislada se asoció de forma estadísticamente significativa con estirpe mucinosa. Se encontraron mutaciones en *KRAS* en 13/18 (72,2%) y en *GNAS* en 10/18 (55,6%) de los quistes clasificados como mucinosos. El análisis mutacional de *KRAS* ofreció una S 81,2% (IC95% 59-100) y E 71,4% (IC95% 30,9-100) ($p = 0,297$), mientras que *GNAS* ofreció una S 76,9% (IC95% 50,1-100) y E 80% (IC95% 50,2-100) ($p = 0,640$) para el diagnóstico de mucinoso. Al combinarse los resultados de las mutaciones encontradas en *KRAS* y *GNAS*, 15/18 lesiones clasificadas como mucinosas presentaron mutaciones en *KRAS* y/o *GNAS*,

ofreciendo una S 83,33% (IC95% 63,34-100), E 60% (IC95% 7,06-100), VPP 88,24 (IC95% 69,98-100) y VPN 50 (1,66-98,34) ($p = 0,086$) para el diagnóstico de mucinoso.

NEOPLASIAS QUÍSTICAS NO MUCINOSAS

Al igual que ocurre con los quistes de estirpe mucinosa, ninguna de las mutaciones analizadas se asoció de forma estadísticamente significativa con el diagnóstico de quiste no mucinoso. Se encontraron mutaciones en *KRAS* en 2/5 (40%) lesiones y en *GNAS* en esas mismas 2/5 (40%) lesiones, por lo que la combinación de ambas mutaciones no ofreció diferentes resultados que su determinación de forma individual.

De esta forma y teniendo en cuenta que en los estudios realizados previamente sobre el papel del análisis molecular en la identificación de lesiones de estirpe mucinosa la especificidad de *KRAS* se aproximaba al 100%, en nuestro estudio se habrían recategorizado a lesiones mucinosas las dos (40%) lesiones clasificadas como no mucinosas que presentaron tanto mutación en *KRAS* como en *GNAS*.

NEOPLASIAS QUÍSTICAS DE NATURALEZA INDETERMINADA

En las 2 (5,6%) lesiones que no pudieron ser clasificadas en mucinosas o no mucinosas, fue posible realizar el análisis molecular. En una (50%) de ellas se encontró mutación en *KRAS* y *GNAS*, pudiendo ser clasificada como mucinosa por lo previamente expuesto, mientras que en la otra (50%) no se encontraron mutaciones.

NEOPLASIAS QUÍSTICAS MALIGNAS

Fue posible determinar la presencia de mutaciones en 4/5 (80%) de las lesiones malignas y en 21/31 (67,7%) de las lesiones no malignas. Se encontraron mutaciones en *KRAS* y/o *GNAS* en las 4 (100%) lesiones clasificadas como malignas y en 14/21 (66,7%) lesiones no malignas. No se encontraron mutaciones en *PIK3CA* en ninguno de los quistes malignos analizados. Ninguna de las mutaciones encontradas se relacionó de forma estadísticamente significativa con malignidad ($p > 0,05$).

Tabla 15: Mutaciones en quistes de estirpe mucinosa (azul) y no mucinosa (gris)

	NO MUCINOSO					MUCINOSO																		
	QP5	QP15	QP18	QP20	QP33	QP0	QP1	QP2	QP3	QP4	QP7	QP11	QP13	QP14	QP16	QP17	QP19	QP21	QP24	QP25	QP29	QP30	QP34	
KRAS																								
GNAS																								
VHL																								
P53																								
PIK3R1																								
EGFR																								
ALK																								
NOTCH1																								
GNA11																								
CDKN2A																								
APC																								
FGFR2																								
IDH1																								
PIK3CA																								
KIT																								
MET																								
FGFR1																								
ROS1																								
GNAQ																								
PDGFRA																								
FGFR3																								
RNF43																								
RET																								
ERBB2																								
DDR2																								
BRAF																								
ESR1																								
FGFR2																								
FBXW7																								
FOXL2																								
MAP2K1																								
AKT1																								
CTNNB1																								
SMAD4																								
PTEN																								
NRAS																								
IDH2																								
HRAS																								
CDH1																								

QP: Quiste Pancreático

5.7.SEGURIDAD DE LA USE-PAAF EN EL ESTUDIO DE LAS NEOPLASIAS QUÍSTICAS PANCREÁTICAS

Tan sólo se produjo una complicación menor en un paciente (2,9%) consistente en sangrado autolimitado post-punción visualizado durante la USE que no requirió tratamiento, observación ni ingreso hospitalario. No se registraron otras complicaciones durante los procedimientos, en la llamada telefónica posterior de control a las 72 horas, ni en la consulta posterior de seguimiento.

5.8.FACTORES EPIDEMIOLÓGICOS RELACIONADOS CON ESTIRPE MUCINOSA Y CON MALIGNIDAD

Tal y como se ha expuesto previamente, según el resultado histopatológico o del análisis del líquido 28 (82,4%) lesiones fueron clasificadas como mucinosas y 6 (17,6%) como no mucinosas. Siguiendo los criterios estándar definidos en el apartado material y métodos, 5 lesiones (13,9%) fueron definidas finalmente como malignas: un caso por citología obtenida mediante USE-PAAF con resultado de adenocarcinoma, un caso por adenocarcinoma sobre TPMI en pieza quirúrgica, dos casos por biopsia de implante peritoneal compatible con adenocarcinoma y un caso con seguimiento clínico compatible con neoplasia avanzada siendo derivado a cuidados paliativos. A continuación, se exponen las características diferenciales demográficas y morfológicas por pruebas de imagen de estas lesiones estando a su vez resumidas en las **tablas 16 y 17**.

Los pacientes con lesiones clasificadas como mucinosas presentaron una edad media de $68,7 \pm 12,6$ años y una proporción similar de mujeres y hombres siendo 14 (51,8%) del sexo masculino mientras que en el grupo de no mucinosas los pacientes presentaron una edad media de $53,7 \pm 17,3$ años siendo 5 (83,3%) mujeres.

De los pacientes con quistes mucinosos 9 (33,3%) presentaban hábito tabáquico y 9 (33,3%) sintomatología asociada. En este grupo 7 (25,9%) pacientes presentaban antecedente personal de neoplasia extrapancreática y 2 (7,4%) pacientes antecedente familiar de cáncer de páncreas, no relacionándose ninguno de estos con la estirpe del quiste de forma estadísticamente significativa ($p = 1,000$ y $p = 0,464$ respectivamente).

En el subgrupo de no mucinosos, 2 (33,3%) pacientes presentaban hábito tabáquico y en un caso (16,7%) sintomatología asociada. En este grupo 2 (33,3%) pacientes tenían antecedente de neoplasia extrapancreática y un paciente (16,7%) antecedente familiar de cáncer de páncreas.

Dentro del grupo con lesiones definidas como malignas, los pacientes presentaron una edad media de $75,2 \pm 5,8$, 3 pacientes (60%) fueron mujeres, ninguno (0%) fumador, un paciente (20%) presentaba antecedente personal de neoplasia extrapancreática y 2 pacientes (40%) antecedente familiar de cáncer de páncreas. Todos los pacientes (100%) con malignidad presentaban síntomas en el momento del diagnóstico.

En cuanto a las lesiones no malignas la edad media fue de $65,4 \pm 15,1$ años, 15 (50%) de los pacientes fueron varones, 12 (40%) fumadores, 9 (30%) tenían antecedente personal de neoplasia extrapancreática, un paciente (3,3%) antecedente familiar de cáncer de páncreas y 5 (16,7%) pacientes se encontraban sintomáticos en el momento del diagnóstico. La presencia de síntomas ($p = 0,001$) y el antecedente familiar de cáncer de páncreas ($p = 0,047$) se asociaron de forma estadísticamente significativa con malignidad.

5.9.UTILIDAD DE LOS CRITERIOS MORFOLÓGICOS POR USE PARA EL DIAGNÓSTICO DE NEOPLASIAS QUÍSTICAS PANCREÁTICAS Y LA DETECCIÓN DE MALIGNIDAD

Por criterios morfológicos endosonográficos 24 (85,7%) de las lesiones mucinosas fueron adecuadamente clasificadas como mucinosas (TPMI o NQM). Dentro del grupo de las no mucinosas 4 (66,7%) de las lesiones fueron clasificadas como serosas y 2 (33,3%) lesiones como mucinosas, ofreciendo una S 86 %, E 66,7%, VPP 92,3% y VPN 50% para la detección de lesiones de estirpe mucinosa. Adicionalmente, la USE clasificó 4 lesiones como malignas de las cuales 3 (75%) tuvieron un diagnóstico final de malignidad, mientras que 2 (40%) lesiones malignas no fueron identificadas como tal por criterios morfológicos endosonográficos en nuestro estudio, ofreciendo los criterios morfológicos endosonográficos una S 69%, E 96,7%, VPP 75% y VPN 93,5% para la detección de malignidad. No obstante, la USE sí que identificó criterios

endosonográficos de sospecha en todas (100%) las lesiones malignas. En cuanto a las no malignas en 13 (41,9%) se definieron criterios endosonográficos de sospecha. El juicio por USE, definido como criterios endosonográficos de sospecha (≥ 1 criterio), se asoció con malignidad con una S 100%, E 58,1%, VPP 27,8% y VPN 100% ($p = 0,045$).

Mediante métodos de imagen radiológicos (TC, RM o colangioRM) todas las lesiones malignas ($n = 5$) fueron clasificadas como malignas o agresivas mientras que dentro del grupo de no malignas 29 (93,5%) fueron clasificadas como no agresivas y 2 (6,5%) como agresivas, asociándose por tanto el juicio radiológico maligno con el diagnóstico final de malignidad con una S 100%, E 93,5%, VPP 71,4% y VPN 100% ($p < 0,001$).

El tamaño medio de las lesiones clasificadas como mucinosas fue de $27,8 \pm 17,2$ mm y la localización en 12 (42,9%) lesiones fue el cuerpo pancreático y en 16 (57,1%) fue la cabeza pancreática. Dentro de las no mucinosas, el tamaño medio fue de $26,7 \pm 4,5$ mm localizándose 3 (50%) de ellas en la cabeza pancreática y otras 3 (50%) en el cuerpo pancreático. Ninguno de estos datos se relacionó de manera estadísticamente significativa con el tipo de quiste. No obstante, si que se encontró asociación entre el tamaño y el riesgo de malignidad. En 4 (80%) de las lesiones malignas el tamaño fue ≥ 3 cm frente a 7 (22,6%) de las lesiones no malignas, asociándose el tamaño ≥ 3 cm con malignidad ($p = 0,024$) con una S 80%, E 77,4%, VPP 36,4% y VPN 96%.

Por criterios endosonográficos en 10 (35,7%) de las lesiones mucinosas y en una (16,7%) no mucinosa se observó dilatación > 3 mm del CPP asociada. Por otro lado, en 3 (60%) lesiones malignas y 6 (19,3%) no malignas se detectó dilatación del CPP ≥ 5 mm no asociándose en nuestro estudio dicho hallazgo de forma estadísticamente significativa con malignidad ($p = 0,088$).

En relación a otro de los "worrisome features", la USE detectó la presencia de nódulo mural en 7 (25%) de las lesiones clasificadas como mucinosas y en 1 (16,7%) de las no mucinosas. La detección de nódulo mural durante la realización de ecoendoscopia no se relacionó de forma estadísticamente significativa con estirpe mucinosa ($p = 1,000$). En cuanto a las lesiones malignas se detectó la presencia de un nódulo mural en una (20%) de ellas mientras que también se detectó en 7 (22,6%) lesiones no malignas, no encontrándose asociación en nuestro estudio entre la presencia de nódulo mural

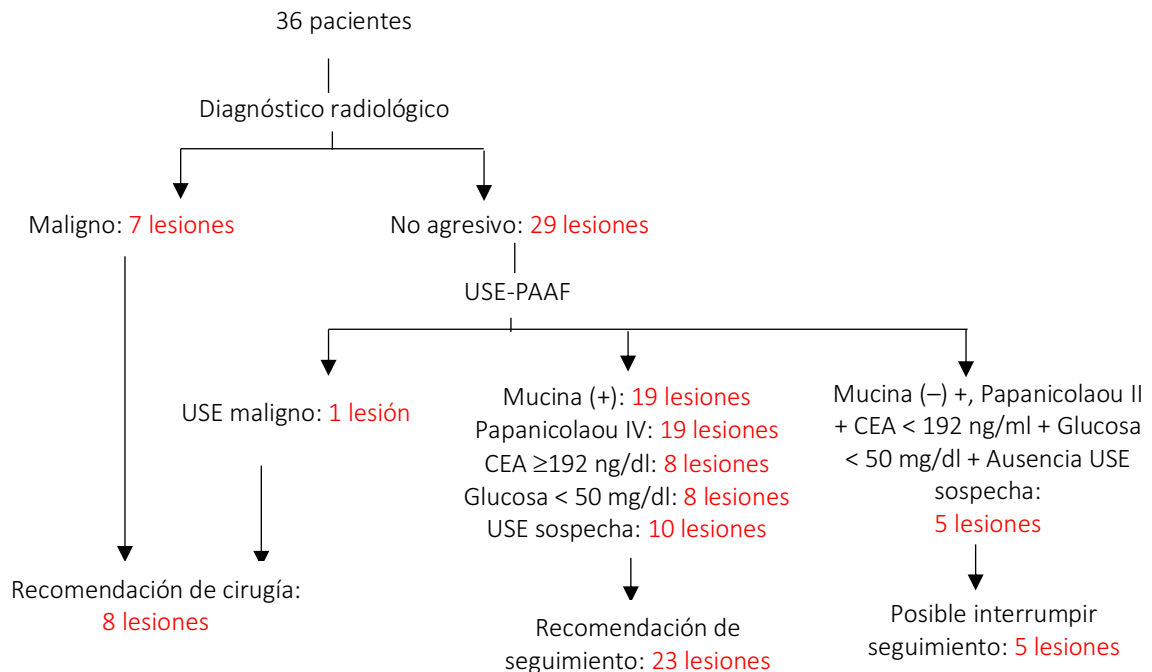
y malignidad ($p = 1,000$). La posible modificación de estos datos en relación a la administración de contraste se expone en el apartado 5.11.

5.10. INFLUENCIA DE LA USE-PAAF SOBRE LA DECISIÓN DE SEGUIMIENTO O DE TRATAMIENTO DE LAS NEOPLASIAS QUÍSTICAS PANCREÁTICAS BASADO EN CRITERIOS MORFOLÓGICOS RADIOLÓGICOS

Según criterios radiológicos 7 (19,4 %) lesiones fueron clasificadas como malignas y por tanto la cirugía fue recomendada. De esas 7 lesiones, 5 (71,4%) fueron malignas según los criterios de malignidad definidos en material y métodos, identificándose el 100% de las lesiones malignas del estudio. Se recomendó cirugía en 2 (28,6%) lesiones no malignas por criterios radiológicos. La USE no clasificó estas dos lesiones como malignas, aunque si definió criterios endosonográficos de sospecha en ambas.

De las 29 (80,6%) lesiones clasificadas como no agresivas por criterios radiológicos tras la USE-PAAF se recomendó cirugía en 1 (3,4%) lesión adicional por presentar criterios morfológicos endosonográficos compatibles con malignidad (componente sólido asociado y sospecha de infiltración de estructuras vasculares). Dicha lesión fue finalmente intervenida con el diagnóstico histopatológico de lesión inflamatoria sobre pancreatitis crónica con áreas de PanIN1A y 1B. Por otro lado, tras la USE-PAAF se recomendaría actitud proactiva mediante seguimiento estrecho o cirugía en 23 (79,3%) lesiones por presentar datos compatibles con tumor de estirpe mucinosa como son la tinción de mucina positiva (19 lesiones), citología Papanicolaou IV (19 lesiones), CEA ≥ 192 ng/ml (8 lesiones) y/o glucosa < 50 mg/dl (8 lesiones), o criterios endosonográficos de sospecha (10 lesiones), presentando en algunos casos más de un criterio en alguno de los parámetros estudiados. Por otro lado, tras la USE-PAAF en 5 (17,2%) lesiones se recomendaría interrumpir el seguimiento por ser clasificadas como serosas (tinción de mucina negativa, CEA < 192 ng/ml, glucosa < 50 mg/dl y ausencia de criterios endosonográficos de sospecha). Por tanto, la USE-PAAF tras la prueba de imagen radiológica, tal y como se expone en la **Figura 16**, modificaría la actitud en 6 (20,7%) casos por recomendar cirugía (1 lesión clasificada como maligna) o interrumpir el seguimiento (5 lesiones clasificadas como serosas).

Figura 16: Modificación del tratamiento o seguimiento tras realización de USE-PAAF



5.11. PAPEL DE LOS ECOPOTENCIADORES COMO PREDICTORES DE MALIGNIDAD Y DEL TIPO DE NEOPLASIAS QUÍSTICAS PANCREÁTICAS

El empleo de contraste ecográfico permite diferenciar los nódulos verdaderos (captantes) de los falsos o acúmulos de mucina (no captantes), evaluar el patrón de captación de las paredes y detectar la presencia de un componente sólido asociado.

De los 7 nódulos murales detectados en lesiones mucinosas, 4 (57,1%) no captaron contraste lo que sugería acúmulo de mucina. El único nódulo mural visualizado en las lesiones no mucinosas (100%) tampoco captó contraste. Ninguno de estos nódulos se describió en la prueba de imagen radiológica.

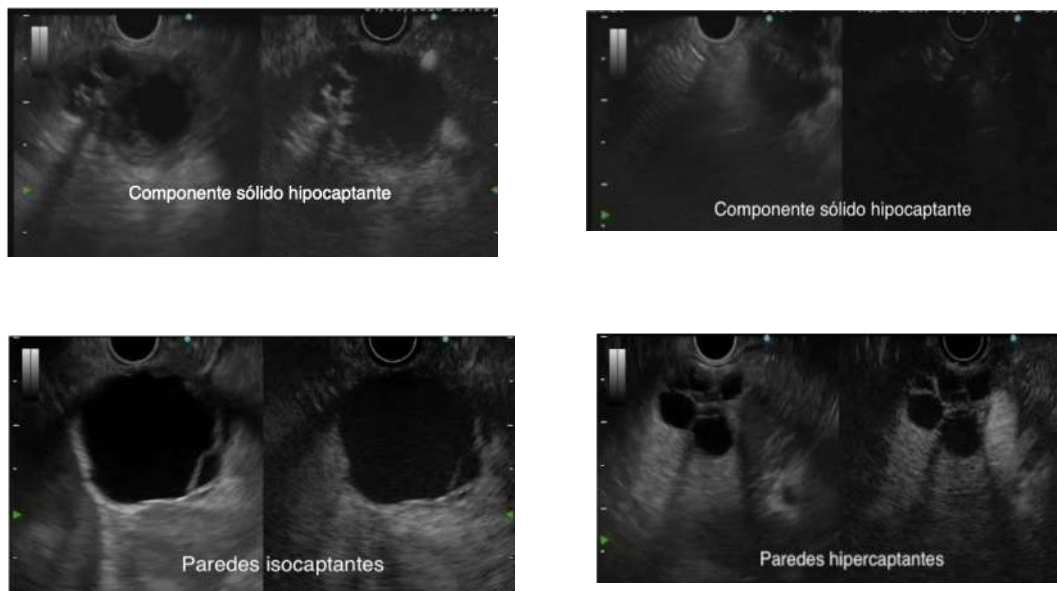
En una (20%) lesión clasificada como maligna la USE detectó la presencia de nódulo mural, siendo captante tras la administración de contraste (100%). Se detectó la presencia de nódulo mural en 7 (22,6%) lesiones no malignas de los cuales 2 (28,6%) fueron captantes, no encontrándose asociación en nuestro estudio entre la presencia de nódulo mural captante y malignidad ($p = 1,000$).

A continuación, evaluamos si existía relación entre el patrón de captación de contraste y la estirpe del quiste. Se administró contraste en 31 (91,2%) de las lesiones

clasificadas como mucinosas o no mucinosas. De las 28 lesiones mucinosas, 15 (53,6%) presentaron paredes hipocaptantes o isocaptantes, 7 (25%) paredes hipercaptantes y 3 (10,7%) patrón mixto de captación. En 3 (10,7%) de las lesiones mucinosas no se administró contraste por contraindicación. Tras el análisis estadístico se concluyó que el patrón de captación paredes hipocaptante o isocaptante se relacionó en nuestro estudio con el diagnóstico de lesión de estirpe mucinosa con una S 68,2%, E 83,3%, VPP 93,7% y VPN 41,7% aunque no de forma estadísticamente significativa ($p = 0,057$). De las 6 lesiones no mucinosas, 5 (83,3%) presentaron paredes hipercaptantes y en un caso fueron hipocaptantes o isocaptantes no asociándose de forma estadísticamente significativa ($p = 0,683$) el patrón hipercaptante con la estirpe no mucinosa.

Posteriormente se analizó si el patrón de captación de contraste se asociaba con malignidad. No se administró contraste en 2 (40%) lesiones malignas. De los 3 pacientes con malignidad a los que se administró contraste en 2 (66,6%) se definió un patrón mixto de captación consistente en componente sólido hipocaptante y paredes con cualquier tipo de captación y en una (33,3%) lesión paredes hipercaptantes. De las lesiones no malignas 18 (60%) presentaron paredes hipocaptantes o isocaptantes, 11 (36,7 %) lesiones paredes hipercaptantes y en 1 (3,3%) lesión componente sólido hipocaptante asociado a paredes con cualquier tipo de captación. El patrón de captación de contraste definido por componente sólido hipocaptante asociado a cualquier tipo de captación parietal se relacionó en nuestro estudio con malignidad de forma estadísticamente significativa con una S 66,7 %, E 96,7%, VPP 66,7% y VPN 96,7 % ($p = 0,017$), con una odds ratio (OR) 58 (IC95% 2,56-1313,85).

Figura 17: Evaluación de neoplasias quísticas pancreáticas con ecoendoscopia con ecopotenciadores de 4 pacientes del estudio



Patrones de captación de contraste en lesiones quísticas pancreáticas (Cortesía del Dr. Felipe de la Morena López, Unidad de Ecoendoscopia Digestiva): a) Lesión oligomacroquística de 41mm en cuerpo pancreático con componente sólido asociado, b) Lesión oligomacroquística de 22mm en cabeza pancreática con componente sólido asociado, c) Lesión quística de 35mm en cabeza pancreática con paredes isocaptantes, d) Lesión polimicroquística de 25mm en cuerpo pancreático con paredes hipercaptantes

5.12. UTILIDAD DE LOS PARÁMETROS BIOQUÍMICOS (CEA Y GLUCOSA) PARA LA DETECCIÓN DE QUISTES DE ESTIRPE MUCINOSA

Se determinaron los niveles de CEA en 23 (82,1%) de las 28 lesiones clasificadas como mucinosas. En este subgrupo de pacientes la mediana de CEA fue de 428 (IQR 92,53-9400) ng/ml. En 15 lesiones (65,2%) se encontraron valores ≥ 192 ng/ml ofreciendo dicho punto de corte una S 65,2%, E 100%, VPP 100% y VPN 42,9% para el diagnóstico de mucinoso (p 0,004). Fue posible determinar los niveles de CEA en los 6 pacientes no mucinosos y en todos los casos las cifras fueron < 192 ng/dl. La mediana de CEA fue de 0,43 (IQR 0-2,76) ng/ml.

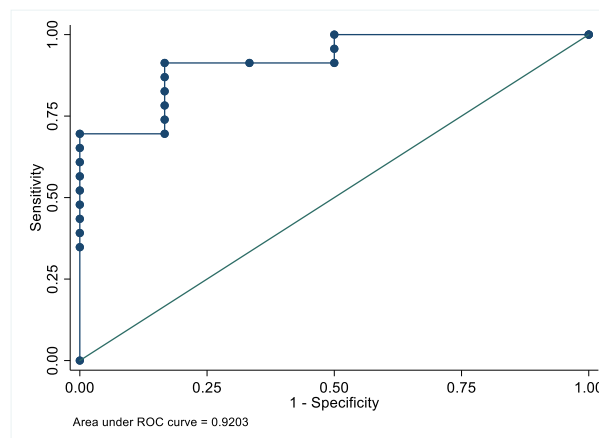
Se determinaron las cifras de glucosa intraquística en 12 de las lesiones clasificadas como mucinosas. La mediana de los niveles de glucosa en estas lesiones fue 5 (IQR 0-28) mg/dl siendo las cifras < 50 mg/dl en 10 (83,3%), relacionándose de forma estadísticamente significativa con el diagnóstico de estirpe mucinosa con una S 83,3

%, E 100%, VPP 100% y VPN 66,7% (p 0,008). Se determinaron las cifras de glucosa intraquística en 4 (66,7%) de las lesiones no mucinosas siendo los valores > 50 mg/dl en todas ellas y la mediana 101 (IQR 88-120) mg/dl.

Calculamos el punto de corte óptimo del CEA y de la glucosa en nuestra muestra para diferenciar entre lesiones mucinosas y no mucinosas. Tras realizar una curva ROC (**figura 18**) establecimos como punto de corte óptimo para el CEA en nuestra serie $\text{CEA} \geq 128,9 \text{ ng/ml}$ con el que se obtuvo una S 69,6 % sin modificar el valor de E 100% (AUC 0,920, IC95% 0,808-1,000). Para la glucosa el punto de corte óptimo en nuestra muestra fue 60 mg/dl con el la S 100% sin modificar los valores de E 100% (AUC 1) para el diagnóstico de mucinoso, mejorando la S respecto al punto de corte 50mg/dl previamente descrito sin modificar los valores de especificidad.

Por último, se realizó una comparación de los parámetros bioquímicos entre lesiones malignas y no malignas. Los niveles de CEA fueron $\geq 192 \text{ ng/dl}$ en las 5 (100%) lesiones malignas y en 10 (41,7%) lesiones no malignas, relacionándose de forma estadísticamente significativa con malignidad con una S 100%, E 58,3%, VPP 33,3 % y VPN 100% (p = 0,042). Los niveles de glucosa se determinaron en 15 lesiones benignas y en una lesión maligna. Los niveles de glucosa fueron < 50mg/dl en la lesión maligna y en 9 (60%) lesiones no malignas no relacionándose de forma estadísticamente significativa con malignidad (p = 1,000).

Figura 18: Curva ROC de los niveles de CEA

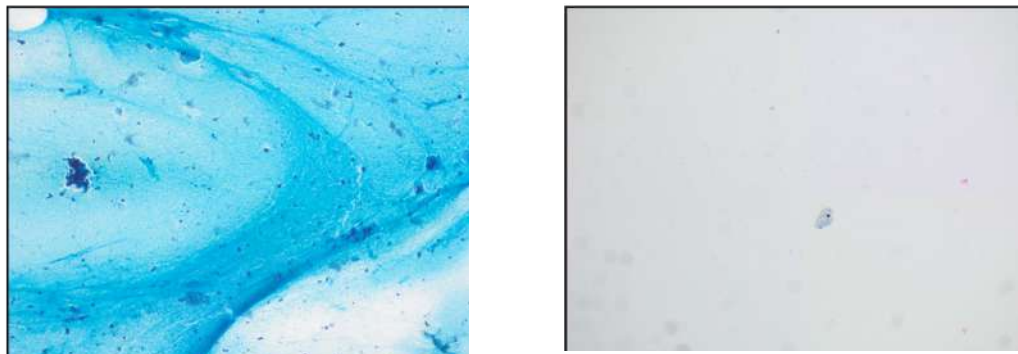


5.13. UTILIDAD DE LA TINCIÓN DE MUCINAS PARA LA DETECCIÓN DE QUISTES DE ESTIRPE MUCINOSA

Se realizó tinción de mucinas con azul alcian en todas las lesiones (**Figura 19**). En el grupo de las lesiones clasificadas como mucinosas, 22 (78,6%) presentaron tinción positiva para mucinas, con una S 78,6%, E 100%, VPP 100% y VPN 50% para el diagnóstico de mucinoso ($p < 0,001$). Las 6 (100%) lesiones no mucinosas presentaron tinción de mucinas negativa.

La tinción de mucinas fue positiva en 3 (60%) de las lesiones malignas y 19 (61,3%) de las lesiones no malignas no relacionándose este resultado con malignidad ($p = 1,000$).

Figura 19: Citología con tinción azul alcian para mucinas



Tinción azul alcian (Hospital Universitario de La Princesa, cortesía del departamento de Anatomía Patológica): a) positiva para mucinas, b) negativa para mucinas

Tabla 16: Características de las lesiones mucinosas y no mucinosas

CARACTERÍSTICAS	LESIONES MUCINOSAS (n = 28) n (%)	LESIONES NO MUCINOSAS (n = 6) n (%)	Significación estadística (p)
EPIDEMIOLÓGICAS			
Edad media (años) (media \pm ds)	68,7 \pm 12,6	53,7 \pm 17,3	ns
Varones	14/27 (51,8%)	1/6 (16,7%)	ns
Hábito tabáquico	9/27 (33%)	2/6 (33%)	ns
Síntomas	9/27 (33%)	1/6 (16,7%)	ns
Neoplasia extrapancreática	7/27 (25,9%)	2/6 (33,3%)	ns
Antecedente familiar ACP	2/27 (7,4%)	1/6 (16,7%)	ns
MORFOLÓGICAS			
Tamaño (mm) (media \pm ds)	27,8 \pm 17,2	26,7 \pm 4,5	ns
Localización			
- Cabeza	16/28 (57,1%)	3/6 (50%)	ns
- Cuerpo	12/28 (42,9%)	3/6 (50%)	ns
Juicio radiológico maligno	7/28 (25%)	0%	ns
Diagnóstico USE mucinoso	24/28 (85,7%)	2/6 (33,3%)	ns
Dilatación > 5mm CPP	10/28 (35,7%)	1/6 (16,7%)	ns
Nódulo mural	7/28 (25%)	1/6 (16,7%)	ns
Patrón de contraste			
- Hipo/isocaptante	15/28 (53,6%)	1/6 (16,7%)	ns
- Hipercaptante	7/28 (25%)	5/6 (83,3%)	ns
ANÁLISIS DEL LÍQUIDO			
CEA \geq 192 ng/ml	15/23 (65,2%)	0%	0,004
Glucosa < 50 mg/dl	10/12 (83,3%)	0%	0,008
Tinción mucina positiva	22/28 (78,6%)	0%	0,001
KRAS/GNAS	15/18 (83,3%)	2/5 (40%)	ns

ACP: adenocarcinoma pancreático, CPP: conducto pancreático principal, ns: no significativo

Tabla 17: Características de las lesiones malignas y no malignas

CARACTERÍSTICAS	LESIONES MALIGNAS (n = 5) n (%)	LESIONES NO MALIGNAS (n = 31) n (%)	Significación estadística (p)
EPIDEMIOLOGICAS			
Edad media (años) (media \pm ds)	75,2 \pm 5,8	65,4 \pm 15,1	ns
Varones	2/5 (40%)	15/30 (50%)	ns
Hábito tabáquico	0	12/30 (40%)	ns
Síntomas	5/5 (100%) (p 0,001)	5/30 (16,7%)	0,001
Neoplasia extrapancreática	1/5 (20%)	9/30 (30%)	ns
Antecedente familiar ACP	2/5 (40%) (p 0,047)	1/30 (3,3%)	0,047
MORFOLÓGICAS			
Tamaño \geq 3 cm	4/5 (80%)	7/31 (22,6%)	0,024
Diagnóstico radiológico maligno	5/5 (100%)	2/31 (6,5%)	< 0,001
Diagnóstico USE sospecha	5/5 (100%)	13/31 (41,9%)	0,045
Dilatación > 5mm CPP	3/5 (60%)	6/31 (19,3%)	ns
Nódulo mural	7/28 (25%)	1/6 (16,7%)	ns
Patrón de contraste			
- Hipo/isocaptante		18/30 (60%)	ns
- Hipercaptante	1/3 (33,3%)	11/30 (36,7%)	ns
- Parte sólida	2/3 (66,6%)	1/30 (3,3%)	ns
hipo/paredes hiper		1/31 (3,3%)	
- No se administra contraste	2/5 (40%)		ns
ANÁLISIS DEL LÍQUIDO			
CEA \geq 192 ng/ml	5/5 (100%)	10/31 (41,7%)	0,042
Glucosa < 50 mg/dl	1/1 /100%	9/15 (60%)	ns
Tinción mucina positiva	3/5 (60%)	19/31 (61,3%)	ns
KRAS/GNAS	4/4 (100%)	14/21 (66,7%)	ns

ACP: adenocarcinoma pancreático, CPP: conducto pancreático principal, ns: no significativo.

6. DISCUSIÓN

La presente tesis evalúa la utilidad de la USE con ecopotenciadores y de la USE-PAAF con análisis del líquido para el estudio de los quistes pancreáticos. Para ello se diseñó un estudio prospectivo en el que se incluyeron 36 lesiones quísticas pancreáticas a las que se realizó estudio mediante USE-PAAF y ecopotenciadores.

El punto clave de nuestro trabajo de tesis ha sido la realización del análisis molecular en el líquido obtenido de los quistes pancreáticos con la finalidad de determinar si permitiría optimizar el diagnóstico. **Enviamos una muestra de líquido de las 36 lesiones quísticas incluidas, obteniéndose suficiente cantidad de ADN para realizar la secuenciación (≥ 100 ng de ADN a una concentración de 30 ng/ul) en 25 (69,4%) de ellas.** Es conocido que las células pancreáticas normales progresan a células neoplásicas mediante la adquisición de mutaciones genéticas, siendo por tanto interesante su detección. Para el análisis molecular se obtiene el DNA presente en el líquido de los quistes pancreáticos procedente de la lisis o exfoliación de las células de la pared del quiste. Se ha demostrado que las mutaciones presentes en el análisis histopatológico del tejido pancreático obtenido de piezas quirúrgicas también están presentes en el líquido pancreático, aunque la cantidad de ADN obtenido en fluido de los quistes es menor y en ocasiones insuficiente^{19,134}. Diversos autores han evaluado diferentes métodos de secuenciación demostrando superioridad del método NGS frente a la PCR o secuenciación Sanger, por lo que elegimos dicho método. Por ejemplo, en el estudio realizado por Singui et al compararon el método Sanger con la secuenciación masiva o “next-generation sequencing” (NGS) y encontraron que la sensibilidad para la detección de mutaciones alélicas era superior con NGS, identificando con una mayor sensibilidad la presencia de tumores de estirpe mucinosa (S 65% vs 89% respectivamente)¹⁹.

En nuestro estudio, el hecho de obtener **una cantidad insuficiente de ADN no se relacionó con un menor volumen de líquido obtenido**, siendo el promedio del volumen de líquido inferior en los casos en los que fue posible el análisis mediante tNGS ($1,8 \pm 1,8$ ml) en comparación con los casos en los que no fue posible ($2,7 \pm 3,1$ ml). Estos datos son similares a los reportados en estudios previos que describen que por norma general el volumen necesario para realizar el análisis molecular oscila entre los 0,2-0,5 ml, pero que en algunas muestras la cantidad de ADN es insuficiente para realizar su análisis (73,1-

98%)^{19,137,139}. En resumen, con los resultados de nuestro estudio y la evidencia previa disponible podríamos concluir que la cantidad de ADN intraquístico es baja en términos generales, y que en los casos en los que sea insuficiente para realizar su análisis, los resultados pueden ser negativos aun disponiendo de un mayor volumen de muestra.

El objetivo principal de nuestro estudio fue evaluar si la realización del análisis molecular permitía mejorar la identificación de lesiones de estirpe mucinosa (premalinas), siendo otro de los objetivos secundarios evaluar su rentabilidad para la detección de malignidad. Para ello **elaboramos un panel para la detección de mutaciones (puntuales, inserciones/delecciones) mediante tNGS en los siguientes genes (con cobertura total para todos los exones):** *AKT1, ALK, APC, BRAF, CDKN2A, CDH1, DDR2, EGFR, ERBB2, ESR1, FBXW7, FGFR1, FGFR2, FGFR3, FOXL2, GNA11, GNAQ, GNAS, HRAS, IDH1, IDH2, KIT, KRAS, MAP2K1, MET, NOTCH1, NRAS, PDGFRA, PIK3CA, PIK3R1, PTEN, RET, ROS1, SMAD4, TP53, VHL, RNF43, CTNNB1, TGFB2*. El análisis mediante tNGS, en las 25 muestras en las que fue posible realizarlo, mostró mutaciones en *KRAS* en 16 (64%) quistes, *GNAS* en 13 (52%), *PIK3R1* en 1 (4%), *IDH1* en 1 (4%), *PDGFRA* en 3 (12%), *FGFR3* en 2 (8%), *RET* en 1 (4%), *ERBB2* en 1 (4%), *BRAF* en 1 (4%), *TGFB2* en 1 (4%), *FBXW7* en 1 (4%) y *MAP2K1* en 1 (4%) quiste, no encontrándose mutaciones en el resto de los genes evaluados. No se encontraron mutaciones en 4 (16%) de estas lesiones. De forma similar Jones et al evaluaron en 92 quistes pancreáticos la presencia de mutaciones en 39 genes mediante PCR (NGS), no encontrando mutaciones en el 43% de los quistes incluidos y siendo las mutaciones más frecuentemente detectadas, al igual que en nuestra serie, *KRAS* y *GNAS*¹⁸. Encontraron en orden de frecuencia mutaciones en los siguientes genes: *KRAS* (47%), *GNAS* (24%), *CDKN2A* (6%), *VHL* (2%), *SMAD4* (1%) y *TP53* (1%).

En nuestra serie **detectamos mutaciones en *KRAS* en 13 (72,2%) de las lesiones clasificadas como mucinosas ofreciendo una S 81,2% (IC95% 59-100) y E 71,4% (IC95% 30,9-100) para el diagnóstico de mucinoso**, aunque el resultado no fue estadísticamente significativo ($p = 0,297$). Adicionalmente **encontramos mutaciones en *GNAS* en 10 (55,6%) de las lesiones clasificadas como mucinosas, siendo la S 76,9% (IC95% 50,1-100) y E 80% (IC95% 50,2-100) para el diagnóstico de mucinoso**, aunque este resultado tampoco fue estadísticamente significativo ($p = 0,640$). Al combinar el resultado de ambas mutaciones, 15 lesiones clasificadas como mucinosas presentaron una o ambas mutaciones ofreciendo una S 83,3% (IC95% 63,34-100) y E 60% (IC95% 7,06-100) para el

diagnóstico de mucinoso, no resultando este resultado estadísticamente significativo ($p = 0,086$). Ninguna de las otras mutaciones analizadas se asoció con los quistes de estirpe mucinosa. En cuanto a las lesiones clasificadas como no mucinosas se encontraron mutaciones en *KRAS* en 2/5 (40%) lesiones y en *GNAS* en esas mismas 2/5 (40%). Ninguna de las mutaciones analizadas se asoció de forma estadísticamente significativa con las lesiones clasificadas como no mucinosas. No encontramos ninguna mutación en *VHL*. No obstante, aunque en caso de presentarse es específica de quistes de estirpe serosa, la frecuencia de dicha mutación en otros estudios es baja. En el estudio de Jones et al en el que analizan el fluido de 92 quistes pancreáticos mediante NGS encontraron mutación en *VHL* en 2 (2%) quistes pancreáticos¹⁸. En el estudio de Springer et al encontraron mutación en el 42% de los cistoadenomas serosos confirmados histopatológicamente, aunque su determinación se realizó en el líquido obtenido de la pieza quirúrgica y por ello el porcentaje pudo ser mayor¹²⁹.

Varios estudios ya han evaluado el papel del análisis molecular para diferenciar entre las diferentes NQP y para detectar malignidad^{84,129}. Así los TPMI se asocian con mutaciones en *KRAS*, *GNAS* y/o *RNF43*, las NQM se asocian con mutaciones en *KRAS* y/o *RNF43* pero no en *GNAS*, las NQS pueden presentar mutaciones en *VHL* y las neoplasias sólidas pseudopapilares se caracterizan por mutaciones en *CTNNB1* pero no en *KRAS*, *GNAS*, *RNF43* ni en *VHL*¹³. Además, mutaciones en *TP53*, *PIK3CA*, *PTEN*, *CDKN2A* y/o pérdida de *SMAD4* se han descrito en lesiones de estirpe mucinosa con neoplasia avanzada por lo que el análisis molecular podría ayudar en la identificación de quistes con presencia de malignidad^{13,19}.

Algunos autores han planteado la posibilidad de incorporar el análisis molecular del líquido intraquístico en el estudio de las neoplasias quísticas pancreáticas debido a la elevada especificidad del *KRAS* y *GNAS* para el diagnóstico de quistes de estirpe mucinosa encontrada en estudios previos con correlación histopatológica y el pequeño volumen necesario para su realización^{15,18,123}. En el estudio realizado por Nikiforova et al en el que realizaron análisis molecular del líquido obtenido mediante USE-PAAF encontraron que la presencia de mutación en *KRAS* ofrecía una S 54% y E 100% para el diagnóstico de mucinoso¹³⁹. En la misma línea Amato et al describen en su estudio que *KRAS* y/o *GNAS* se encontraban mutados en el 92% de los TPMI, estando mutado *GNAS* en el 79%, *KRAS* en el 50 % y ambos en el 37,5%¹³⁴, y Singhi et al encontraron mutaciones en *GNAS* en el

39%, *KRAS* en el 68% y ambas en el 83% de las IPMN, aunque solamente un 6% de las NMQ presentaron mutación en *KRAS* y/o *GNAS*²⁷⁸. No obstante, otros autores como Al-Haddad et al encontraron que la presencia de mutación en *KRAS* y/o ≥ 2 LOH en el líquido de los quistes obtenido mediante USE-PAAF presentaba una S 50% y E 80% para el diagnóstico de mucinoso¹³³. En su estudio, un 58% de los quistes mucinosos confirmados mediante análisis histopatológico no presentaron mutaciones en *KRAS*, aunque el análisis molecular permitió clasificar adecuadamente un 24% de los quistes mucinosos que no pudieron ser clasificados mediante análisis bioquímico (CEA) y citológico. En nuestro caso *KRAS* ofreció una S 81,2% y E 71,4%, *GNAS* S 76,9% y E 80%, y la combinación de *KRAS* + *GNAS* S 83,3% y E 60% para el diagnóstico de mucinoso. La S se aproxima o es superior a la de los estudios presentados, incluso con aquellos en los que se obtuvo el líquido mediante aspiración del contenido del quiste de la pieza quirúrgica. En cambio, los valores de especificidad son inferiores. Esto probablemente se deba a la ausencia de correlación histopatológica en algunas lesiones, que podría haber modificado el diagnóstico final, y al menor tamaño muestral en nuestra serie.

Teniendo en cuenta por tanto la elevada especificidad atribuida a *KRAS* y *GNAS* en estudios previos para el diagnóstico mucinoso consideramos que **en nuestro estudio 2 (40%) lesiones sin diagnóstico histopatológico clasificadas como no mucinosas se hubiesen recategorizado a mucinosas tras la realización del análisis molecular debido a la presencia de mutación tanto en *KRAS* como en *GNAS***. Adicionalmente, de los 2 quistes indeterminados en nuestro estudio, uno (50%) de ellos presentó mutaciones tanto en *KRAS* como en *GNAS* por lo que se hubiese podido clasificar como mucinoso. Por ello, estamos de acuerdo en que la realización del análisis molecular, al menos en casos dudosos, podría añadir información y categorizar adecuadamente a los pacientes como mucinosos, siendo este punto importante ya que implica mantener el seguimiento a largo plazo por el riesgo de degeneración y por el mayor riesgo asociado de neoplasia pancreática concomitante. **Estamos de acuerdo, en concordancia a la evidencia previa, con la afirmación que realizan otros autores acerca de la utilidad de asociar las determinaciones del CEA (más sensible) y *KRAS*/*GNAS* (más específico)¹²³**, aunque consideramos que hacen falta más estudios prospectivos con correlación histopatológica.

Otro de los puntos de interés del análisis molecular es la detección de malignidad dada la baja precisión diagnóstica de otros métodos diagnósticos, la morbilidad asociada

a la cirugía pancreática y el riesgo de no intervenir en fases precoces una neoplasia quística pancreática malignizada. En nuestro caso pudimos evaluar la presencia de mutaciones en el fluido quístico en 4/5 (80%) lesiones malignas. Encontramos mutaciones en *KRAS* y/o *GNAS* en todas (100%) las lesiones malignas, pero ninguna de estas lesiones presentó mutación en *PIK3CA*. Adicionalmente encontramos mutaciones en *IDH1* (n=1) y *TGFBR2* (n= 1). En nuestra serie ninguna mutación se relacionó de forma estadísticamente significativa con malignidad. En estudios previos *KRAS* y *GNAS* tampoco se han relacionado con malignidad y se han descrito como mutaciones que se producen en las primeras etapas de la carcinogénesis pancreática^{13,18,137}. En cambio, otras como son *TP53*, *PIK3CA*, *PTEN* o pérdida de *SMAD4* se han relacionado con malignidad^{13,18,19}. Nuestros resultados, de forma similar a los obtenidos en el estudio de Singhi et al¹⁹, demuestran que *KRAS* y *GNAS* son mutaciones que se producen en las fases iniciales de la carcinogénesis y que por tanto están presentes en el 100% de las neoplasias quísticas mucinosas malignas, no obstante en su estudio encontraron que un 50% de las IPMN con displasia de alto grado y el 100% de las IPMN con adenocarcinoma presentaban, además de las mutaciones en *KRAS* y/o *GNAS*, mutación en *TP53*, *PIK3CA* y/o *PTEN*. En nuestro estudio no encontramos mutaciones en *TP53*, *PTEN* ni *PIK3CA*. Las diferencias se podrían justificar por la escasa incidencia de malignidad nuestra muestra, en diferencias en el tiempo desde la extracción hasta la realización del análisis molecular y en diferencias en el proceso de realización del análisis molecular.

En cuanto a la seguridad de la técnica, realizamos USE-PAAF de 36 lesiones quísticas pancreáticas presentando tan solo una (2,9%) complicación menor consistente en un sangrado autolimitado post-punción por lo que podemos afirmar que, tal y como se ha descrito en estudios previos^{91,147,155}, la USE-PAAF es una técnica segura que asocia una baja tasa de complicaciones en el estudio de las lesiones quísticas pancreáticas.

En la evaluación de un paciente con una neoplasia quística pancreática se deben tener en cuenta los factores de riesgo individuales de malignidad. En este trabajo de tesis doctoral la presencia de síntomas y el antecedente familiar de cáncer de páncreas se relacionaron de forma estadísticamente significativa con malignidad (**Tabla 17**), lo que justifica identificar y proponer pautas diferentes de seguimiento en estos pacientes. En la bibliografía previa se ha encontrado un mayor riesgo de cáncer de páncreas en pacientes con tabaquismo, edad avanzada, pancreatitis crónica, obesidad y, al igual que

en nuestro estudio, en aquellos con antecedente familiar de cáncer de páncreas²⁰⁸. Una posible explicación es que el pequeño tamaño muestral del presente estudio no nos ha permitido encontrar la relación entre estos factores con la malignidad de las lesiones analizadas. Además, la presencia de síntomas se considera un factor de riesgo para malignidad, sobre todo en presencia de pérdida de peso o ictericia obstructiva^{3,30,31,246,247}.

Con relación al proceso diagnóstico, el estudio inicial suele realizarse mediante pruebas de imagen radiológicas, generalmente TC o RM. Según los criterios de malignidad definidos en el protocolo 5 (13,8%) lesiones fueron clasificadas como malignas. En nuestra serie, todas las lesiones incluidas disponían de un estudio radiológico previo mediante TC, RM o CPRM. Por criterios radiológicos 7 (19,4%) lesiones fueron clasificadas como malignas, detectando el 100% de las lesiones malignas y realizando sobrediagnóstico en 2 lesiones, asociándose el diagnóstico radiológico con malignidad con una S 100%, E 93,5%, VPP 71,4% y VPN 100% ($p < 0,001$).

En base a las recomendaciones de las principales guías de práctica clínica empleadas en nuestro medio^{3,30}, definimos como criterios endosonográficos compatibles con malignidad la infiltración de estructuras adyacentes, la presencia de adenopatías con criterios endonográficos patológicos, la dilatación CPP $\geq 10\text{mm}$ y la presencia de nódulo mural con captación de contraste $\geq 5\text{mm}$. En caso de presentarse cualquiera de estos criterios consideramos que la cirugía hubiese estado indicada. Por otro lado, definimos como criterios endosonográficos de sospecha el tamaño $\geq 3\text{ cm}$, la afectación o comunicación directa con el conducto pancreático principal, la dilatación del CPP entre 5-9mm, la presencia de nódulo sólido o mural captante $< 5\text{mm}$, la hipoecogenicidad periférica en forma de cascarón hipoecoico y el crecimiento $\geq 5\text{mm}$ respecto a la prueba de imagen previa. En caso de presentarse alguno de estos criterios consideramos que el riesgo de malignidad está aumentado y que dichas lesiones son subsidiarias a un seguimiento estrecho o, en algunos casos, plantear cirugía de forma individualizada.

Siguiendo estos criterios, 4 (11,1%) lesiones fueron clasificadas por el ecoendoscopista experto como malignas identificando adecuadamente 3 (60%) de las lesiones malignas y no detectando 2 (40%) de ellas, ofreciendo una S 69%, E 96,7%, VPP 75% y VPN 93,5% para la detección de malignidad. Estos resultados son acordes con estudios previos en los que se concluye que, en muchos casos, es difícil diferenciar entre los distintos tipos de

quistes y el riesgo de malignidad mediante criterios clínicos y morfológicos puesto que las diferentes lesiones pueden presentar características similares⁹¹. En este sentido, las principales guías de práctica clínica a nivel internacional, especialmente la guía AGA 2015, han sido criticadas por varios autores en base a la baja S y E para la detección de lesiones malignas^{10,224}. Por ello, estos autores recomiendan completar el estudio de las neoplasias quísticas pancreáticas mediante USE-PAAF. En el estudio de Sedlack et al obtuvieron mediante criterios morfológicos endosonográficos una S, E y precisión respectivamente para la detección de aquellas lesiones malignas o potencialmente malignas del 91%, 60% y 82%⁵⁸. No obstante, incluyen los TPMI y NQM sin carcinoma asociado como lesiones potencialmente malignas por lo que la sensibilidad en su estudio es superior a la que presentamos. Estudios posteriores subrayan que las características endosonográficas en las lesiones quísticas pancreáticas no son suficientes como predictor individual de malignidad^{59,60}.

En nuestro estudio, todos los quistes con malignidad presentaron criterios endosonográficos de sospecha asociándose con malignidad con una S 100%, E 58,1%, VPP 27,8% y VPN 100% ($p = 0,045$), acercándose así más a los resultados del estudio de Sedlack et al. Adicionalmente estos resultados son acordes con otros estudios como el de Selma et al en el que indicaron tratamiento quirúrgico a aquellos que presentaban estigmas de alto riesgo o hallazgos preocupantes por ecoendoscopia (criterios similares a los nuestros empleados), y concluyeron que, en caso de haber seguido las recomendaciones de la AGA de forma estricta un 12% de las neoplasias malignas no se habrían detectado, frente al 0% si se siguen aquellas de la IAP o la guía Europea.

De forma individual el tamaño ≥ 3 cm se asoció con malignidad ($p = 0,024$). Se han descrito criterios endosonográficos de sospecha de malignidad como son el tamaño superior a 3 cm, la presencia de componente sólido, el engrosamiento mural, la dilatación del Wirsung, el cambio abrupto del calibre del Wirsung con atrofia distal de la glándula pancreática y la presencia de linfadenopatías^{2,4}. Tal y como han descrito otros autores encontramos que, aunque los quistes de pequeño tamaño tienen un menor riesgo de malignidad, no están exentos de ésta²¹³. En nuestra experiencia **1/5 (20%) lesiones con malignidad presentaba un tamaño inferior a 3 cm**. La dilatación del conducto pancreático principal y la presencia de nódulo mural no se asociaron con malignidad de forma estadísticamente significativa. Consideramos que esto se debe al pequeño tamaño

muestral de nuestra muestra y, al igual que otros autores, consideramos que se trata de hallazgos relacionados con malignidad y por tanto aquellos que los presentaban han sido clasificados como malignos (CPP ≥ 10 mm o nódulo mural captante ≥ 5 mm) o de sospecha (CPP 5-9 mm o nódulo mural captante < 5 mm).

Los quistes de estirpe mucinosa, a diferencia de los serosos, tienen potencial de malignizar o incluso ser malignos en el momento del diagnóstico⁹. Sin embargo, los criterios morfológicos radiológicos y endosonográficos ofrecen según la evidencia previa disponible una baja precisión diagnóstica para la diferenciación entre lesiones de estirpe mucinoso y no mucinoso, siendo para la TC y RM del 61% ¹⁴ y del 50-73% con la ecoendoscopia⁸⁶. En nuestro estudio clasificamos las lesiones en mucinosas y no mucinosas mediante la combinación de criterios histológicos, bioquímicos y citológicos (descritos en apartado material y métodos). En 2 (5,6%) de las lesiones no fue posible realizar dicha clasificación, siendo por tanto quistes indeterminados. De las 34 lesiones restantes, 28 (82,4%) fueron clasificadas como mucinosas. Mediante pruebas de imagen radiológicas no se diferenció entre los diferentes tipos de quistes y tan solo se detalló si presentaban criterios de agresividad o crecimiento. La USE es una técnica operador-dependiente⁶⁴. En nuestro caso las lesiones fueron evaluadas por un ecoendoscopista experto, quien clasificó los quistes en función de los criterios morfológicos en malignos, mucinosos (TPMI o NQM) y serosos. De los quistes de estirpe mucinosa, 24 (85,7%) fueron clasificados como mucinosos (TPMI o NQM) por criterios morfológicos endosonográficos y 4 (14,3%) como lesiones con criterios de malignidad. Dentro del grupo de las no mucinosas 4 (66,7%) de las lesiones fueron clasificadas por criterios endosonográficos como serosas y 2 (33,3%) lesiones como mucinosas. Por ello, en nuestro estudio, podemos concluir que los criterios morfológicos por USE fueron superiores a los criterios radiológicos para la detección de lesiones de estirpe mucinosa, aunque los métodos radiológicos presentaron una mayor especificidad para la detección de malignidad.

Tras clasificar las lesiones, determinamos la influencia de la USE-PAAF en la modificación de la actitud basada en los criterios radiológicos. En términos generales, de las 36 lesiones incluidas, 7 (19,4%) fueron clasificadas como malignas por criterios radiológicos y 29 (80,6%) como lesiones de baja sospecha radiológica. De estas últimas, en 1 (3,4%) se recomendó cirugía por criterios endosonográficos compatibles con malignidad y en 23

(79,3%) lesiones seguimiento por presentar criterios endosonográficos de sospecha y/o criterios citológicos o bioquímicos compatibles con quiste de estirpe mucinosa. Según el documento realizado por la ESGE en 2020, la guía de la ACG y la guía Europea, las neoplasias quísticas serosas confirmadas no requieren seguimiento dado que se trata de neoplasias benignas^{30,31,279}. Tras la USE-PAAF, en 5 (17,2%) lesiones fue posible interrumpir el seguimiento por ausencia de criterios endosonográficos de sospecha y de criterios citológicos o bioquímicos compatibles con quistes mucinosos. Por ello, **la USE-PAAF permitió una mejoría en el conocimiento de las lesiones que radiológicamente sólo eran informadas como de baja sospecha, y por tanto un cambio de actitud indicando cirugía o permitiendo interrumpir el seguimiento en un total de 6 (21,7%) de estas lesiones (Figura 16).**

Tal y como hemos expuesto, se recomendó cirugía en una (3,4%) lesión tras USE-PAAF por presentar criterios morfológicos endosonográficos compatibles con malignidad, consistentes en componente sólido e infiltración de estructuras vasculares, siendo el resultado histopatológico final de lesión inflamatoria sobre pancreatitis crónica con áreas de PanIN1A y 1B. Las PanIN son neoplasias pancreáticas intraepiteliales, precursoras de adenocarcinoma pancreático, y se dividen en bajo grado (PanIN1A, PanIN1B y PanIN2) y alto grado (PanIN3)¹⁹⁸. Aunque el grado de evidencia es bajo, el riesgo estimado de desarrollar adenocarcinoma pancreático asociado a las PanIN1 es del 1,5% en varones y 1,3% en mujeres a lo largo de la vida del paciente²⁸⁰. La importancia del seguimiento de las neoplasias quísticas mucinosas radica tanto en el potencial de malignidad como en el mayor riesgo de adenocarcinoma pancreático concomitante que presentan estos pacientes. En un meta-análisis reciente realizado por Choi et al en el que evaluaron la progresión de las neoplasias mucinosas pancreáticas a cáncer de páncreas encontraron que las TPML de bajo riesgo (CPP no dilatado y sin nódulos murales) presentaban un riesgo de cáncer de páncreas del 7,8% y las de alto riesgo del 24,7%, con una incidencia anual del 0,65-0,8%, manteniéndose el riesgo de desarrollo de cáncer de páncreas de forma lineal en el tiempo por lo que recomiendan mantener el seguimiento¹². En nuestro estudio tras la realización de USE-PAAF se recomendó seguimiento de 23 lesiones por presentar uno o más de los siguientes datos compatibles con tumor de estirpe mucinosa como son la tinción de mucina positiva (19 lesiones), citología Papanicolaou IV (19

lesiones), CEA \geq 192 ng/ml y/o glucosa $<$ 50 mg/dl, o criterios endosonográficos de sospecha (10 lesiones) (**Figura 16**).

No obstante, planteamos dos aclaraciones en este algoritmo sobre la modificación del tratamiento tras USE-PAAF (**Figura 16**). En primer lugar, tras la USE-PAAF en 23 (79,3%) lesiones se recomendó seguimiento, pero no consideramos que todas las lesiones presenten el mismo riesgo de malignidad. Las 10 (43,5%) lesiones que presentaron hallazgos endosonográficos de sospecha consideramos que presentan un mayor riesgo de malignizar y que por tanto se beneficiarían de un seguimiento estrecho o incluso de plantear cirugía de forma individualizada, teniendo en cuenta la edad, comorbilidades, preferencias del paciente tras explicar beneficios y riesgos, y exposición en comité multidisciplinar. En segundo lugar, en 5 lesiones se pudo recomendar interrumpir el seguimiento ante análisis bioquímico compatible con estirpe serosa y ausencia de criterios endosonográficos de sospecha. No obstante, tras realizar el análisis molecular, 2 (40%) de estas lesiones se hubiesen recategorizado como mucinosas al detectarse mutaciones en KRAS y GNAS. Esto refleja las dificultades que los profesionales se encuentran a la hora de establecer el diagnóstico y decidir el seguimiento o tratamiento de estas lesiones.

Existen, tal y como se ha descrito en la evidencia previa, múltiples guías de práctica clínica sobre el diagnóstico, tratamiento y seguimiento de las neoplasias quísticas pancreáticas, existiendo diferencias, entre otras, en cuanto al papel e indicación de la USE-PAAF, de cirugía y de seguimiento^{2,3,20,30,31,56,92,112,195}. No obstante, esto traduce la falta de acuerdo entre diferentes autores en cuanto al papel e indicación de esta técnica, probablemente debido a la dificultad para la detección precoz de malignidad combinada con evitar cirugías innecesarias, y para establecer estrategias coste-efectivas de seguimiento. La guía de la AGA ha sido ampliamente criticada por su baja precisión diagnóstica para la detección de lesiones quísticas malignas, y por su recomendación de interrumpir el seguimiento a largo plazo en ausencia de hallazgos o cambios significativos^{11,15,222}. Por otro lado, la guía Europea y la IAP también han sido criticadas fundamentalmente por el elevado número de cirugías innecesarias relacionadas con sus recomendaciones^{10,226}. Por ello múltiples autores han propuesto algoritmos alternativos basados fundamentalmente en la disminución del umbral para la indicación de USE-PAAF y en la realización del análisis molecular^{15,24,229}.

En nuestro caso elegimos un tamaño ≥ 15 mm como punto de corte para la inclusión de lesiones para estudio mediante USE-PAAF. **Si hubiésemos seguido la guía IAP³ no se hubiese realizado USE-PAAF a 25 (69,4%) de las lesiones incluidas**, de las cuales 7 (28%) presentaban criterios endosonográficos de sospecha y 2 (8%) fueron malignas. La detección de criterios endosonográficos de sospecha en las 5 lesiones restantes pudo reforzar la indicación de seguimiento estrecho. Adicionalmente, 4 (16%) lesiones fueron clasificadas como serosas, permitiendo por tanto interrumpir el seguimiento en las mismas. En cambio, dado que los criterios morfológicos radiológicos no precisaron la estirpe del quiste y por tanto se trataba de quistes indeterminados, según la guía Europea³⁰ que recomienda el estudio combinado mediante prueba de imagen radiológica y USE-PAAF en lesiones indeterminadas > 15 mm, se hubiesen incluido todas (100%) las lesiones. Consideramos que establecer 15mm como umbral para la realización de USE-PAAF es un umbral adecuado para el estudio de las neoplasias quísticas pancreáticas ya que proporciona información adicional a los métodos de imagen radiológicos. Adicionalmente, si se consiguiese protocolizar la realización del análisis molecular y estudios prospectivos confirmasen la elevada especificidad del mismo, se podría incluso plantear la USE-PAAF en lesiones de menor tamaño.

Consideramos indicación absoluta de cirugía la presencia de criterios radiológicos o endosonográficos compatibles con malignidad. Si se hubiesen seguido las guías IAP o la Europea se hubiesen indicado el mismo número de cirugías, y esto se debe a que los criterios endosonográficos de nuestro estudio fueron definidos siguiendo estas guías^{3,30}. Cabe destacar que los criterios endosonográficos compatibles con malignidad no identificaron 2 (40%) de las lesiones malignas, no obstante, sí identificaron criterios endosonográficos de sospecha en las 5 (100%) lesiones malignas. En concreto, el criterio de malignidad que estuvo presente en todas las lesiones fue el crecimiento en semiluna hipoecoica periférica. La guía IAP se postula acerca de la presencia de nódulo mural no define este hallazgo, mientras que en la guía Europea podría corresponder a la definición de masa sólida, clasificada como indicación absoluta de cirugía, por lo que consideramos que el hallazgo de una masa sólida o de semiluna hipoecoica periférica se deberían considerar como indicaciones absolutas de cirugía.

En cuanto a la indicación de seguimiento, la guía IAP hace referencia exclusivamente a los quistes de estirpe mucinosa, indicando seguimiento en todas las lesiones con

diferentes intervalos en función del tamaño de las mimas. En cuanto a la guía Europea, realizan una indicación superponible a la que planteamos, y que consiste en mantener el seguimiento de las lesiones mucinosas e interrumpirlo en las de estirpe seroso. No obstante, la diferenciación entre lesiones de estirpe serosa y mucinosa es difícil por lo que la guía Europea plantea realizar USE-PAAF con análisis citológico, de los niveles de CEA y molecular con determinación de KRAS y GNAS para su adecuada diferenciación. Por el momento, la guía IAP considera que la realización de análisis molecular es experimental y tan solo debería plantearse su realización en centros con experiencia en estas técnicas. En este sentido, aunque nos mostramos de acuerdo con la recomendación de la guía Europea ya que se podrían evitar seguimientos innecesarios, hemos comprobado que la realización del análisis molecular es un procedimiento complejo, de elevado coste y para el que es necesario contar con un equipo con experiencia, por lo que la técnica, antes de implementarse de forma generalizada, debería ser estandarizada.

La USE-CE ha demostrado utilidad en el estudio de las neoplasias quísticas pancreáticas. Los nódulos murales son hallazgos que se han relacionado con riesgo de malignidad y cuya presencia puede implicar la decisión de tratamiento quirúrgico³. En ocasiones las pruebas de imagen radiológicas son poco sensibles para detectar su presencia y la discriminación entre nódulos murales y acúmulos de mucina mediante pruebas de imagen radiológicas y USE convencional es subóptima¹⁷⁴. Por todo ello empleamos contrastes ecográficos en la evaluación de las lesiones incluidas con la finalidad determinar su papel en la detección de malignidad y del tipo de neoplasias quísticas pancreáticas. **Realizamos una valoración inicial mediante USE convencional de las 36 lesiones quísticas detectando la presencia de nódulo mural en 8 (22,2%) de ellas. Ninguno de estos nódulos murales fue observado en las pruebas de imagen radiológicas.** No se administró contraste en 3 (8,3%) lesiones por contraindicaciones relativas, incluyendo un caso con nódulo mural. De las 7 lesiones con nódulos murales en tan solo 2 (28,6%) se observó captación de contraste siendo el tamaño medio de los mismos $6,35 \pm 1,91$ mm, estando por tanto en relación con nódulos murales verdaderos (**Figura 14**). El tamaño medio de los nódulos no captantes fue de $5,08 \pm 1,68$ mm, de los cuales 4 (80%) se encontraban en lesiones clasificadas como mucinosas relacionándose por tanto con

acúmulos de mucina y otro nódulo no captante se describió en una lesión clasificada como no mucinosa pudiendo tratarse de detritus o de una falsa imagen.

De forma concordante con nuestra experiencia, otros autores habían demostrado que la USE-CE aumenta la precisión diagnóstica para la detección de nódulos murales^{22,173}. Yamashita et al realizaron un estudio prospectivo en el que realizaron USE-CE a 17 pacientes intervenidos quirúrgicamente con TPML y lesiones murales¹⁷⁶. Detectaron mediante USE-CE todos los nódulos murales verdaderos y describieron uno adicional obteniendo una sensibilidad, especificidad, VPP, VPN y precisión del 100%, 80%, 92%, 100% y 94% respectivamente. Por otro lado, Kamata et al publicaron una serie en la que comparan la detección de nódulos murales y de lesiones malignas por USE convencional y por USE-CE en 70 pacientes que posteriormente fueron intervenidos quirúrgicamente²². Estos autores encontraron que la USE-CE fue superior a la USE convencional en la discriminación entre nódulos murales verdaderos y acúmulos de mucina, siendo también superior para determinar si la presencia de nódulo mural se asociaba con malignidad (respectivamente S 97% vs 97%; E 75% vs 40%; precisión 84 % vs 64 %). Describen que los nódulos murales con un tamaño igual o superior a 4 mm detectados con USE-CE se asociaban con malignidad (OR 56), mientras que el tamaño medido con USE convencional debía ser mayor (≥ 8 mm con OR 15). En nuestro caso no encontramos asociación entre la presencia de nódulo mural y de malignidad ($p = 1,000$). No obstante, esto probablemente se deba al pequeño tamaño muestral. Adicionalmente no pudimos incluir en el análisis una lesión con nódulo mural detectado mediante USE porque no se administró contraste, tratándose finalmente de una lesión maligna por evolución.

Adicionalmente la USE-CE permite evaluar el patrón de captación de contraste de los septos y paredes posibilitando diferenciar los pseudoquistes de las neoplasias quísticas pancreáticas ya que los primeros presentan ausencia de captación de sus paredes a diferencia de las segundas⁶². En nuestro estudio 15 (53,6%) lesiones mucinosas presentaron paredes hipocaptantes o isocaptantes, 7 (25%) paredes hipercaptantes y 3 patrón mixto de captación, mientras que 5 (83,3%) lesiones no mucinosas presentaron paredes hipercaptantes y en un (16,7%) caso fueron hipocaptantes o isocaptantes, no encontrando diferencias estadísticamente significativas entre los patrones de captación en lesiones mucinosas y no mucinosas. Estos resultados son compatibles con otros

estudios en los que el patrón de captación de las paredes no ha demostrado diferenciar entre quistes mucinosos y no mucinosos¹⁷³.

Consideramos que el contraste puede ayudar a detectar la presencia de malignidad. De las 5 lesiones malignas administramos contraste en 3 (60%) de ellas, presentando 2 (66,7%) patrón de captación mixto de contraste, consistente en un componente sólido hipocaptante asociado a cualquier tipo de captación de pared, y una (33,3%) lesión paredes hipercaptantes. **En nuestro caso el patrón de captación de contraste definido por componente sólido hipocaptante asociado a cualquier tipo de captación parietal sí se relacionó con malignidad con una S 66,7 %, E 96,7%, VPP 66,7% y VPN 96,7 % (p = 0,017).** Consideramos que este patrón de contraste corresponde al hallazgo de masa focal hipoecoica, ya descrito en la bibliografía previa y relacionado con malignidad²⁴, y sería interesante validar en estudios prospectivos de mayor tamaño con confirmación histopatológica si este patrón de contraste se correlaciona con malignidad.

Tal y como hemos expuesto previamente, la USE-PAAF permite realizar una evaluación morfológica y adicionalmente análisis del líquido bioquímico, citológico y molecular, habiendo demostrado en múltiples estudios aumentar la precisión diagnóstica en lesiones quísticas pancreáticas respecto a otras pruebas de imagen y pudiendo por tanto modificar el tratamiento de estos pacientes¹⁵. Realizamos punción con aguja de 22G a las 36 lesiones incluidas en el estudio y remitimos el material para estudio citológico, bioquímico y molecular. El análisis bioquímico contribuye en la diferenciación entre lesiones de estirpe mucinosa y no mucinosa, pero no permite detectar la presencia de malignidad¹²³. CEA es el marcador tumoral más preciso para la detección de quistes de estirpe mucinosa⁸³, siendo el punto de corte más empleado 192 ng/ml. En el estudio prospectivo llevado a cabo por Brugge et al en el que incluyeron 112 pacientes con diagnóstico histopatológico encontraron que el CEA era el marcador que mayor precisión diagnóstica ofrecía para la detección de lesiones de estirpe mucinosa, estableciendo como punto de corte óptimo 192ng/ml con el que obtuvieron una S 73%, E 84%, una precisión del 79% y un área bajo la curva ROC del 0,79 para el diagnóstico de tumores mucinosos⁵⁹.

Como parte del análisis bioquímico medimos los niveles de CEA intraquísticos para evaluar su utilidad para la detección de quistes de estirpe mucinosa. Determinamos los niveles de CEA en 29 (80,6%) de las lesiones incluidas. En 6 (16,6%) lesiones no fue posible

determinar sus niveles por muestra insuficiente, ya que para su determinación nuestro laboratorio requiere al menos 1ml de volumen, y en un caso (2,8%) no fue técnicamente posible por tratarse de un líquido con elevada viscosidad. La mediana de los niveles de CEA en las lesiones clasificadas como mucinosas fue de 428 (IQR 92,53-9400) ng/ml, mientras que en las lesiones no mucinosas fue de 0,43 (IQR 0-2,76) ng/ml. Estos resultados son acordes con otros estudios realizados en los que demuestran que la mediana de niveles de CEA es superior en los quistes de estirpe mucinosa^{89,94}. Con el punto de corte clásicamente establecido de 192ng/ml los niveles de CEA ofrecieron una S 65,2%, E 100%, VPP 100% y VPN 42,9% para el diagnóstico de mucinoso (p 0,004). Tras realizar una curva ROC establecimos como punto de corte óptimo para el CEA en nuestra serie $\geq 128,9$ ng/ml con el que se obtuvo una S 69,6 % sin modificar el valor de E 100% (AUC 0,920, IC95% 0,808-1,000) (**Figura 19**). Un aumento en el punto de corte del CEA aumenta la especificidad, pero disminuye la sensibilidad. En la revisión sistemática llevada a cabo por van der Waaij et al concluyeron que valores de CEA > 800 ng/ml se relacionaban con quistes de estirpe mucinosa con una S 48% y E 100%, mientras que unos valores de CEA < 5 ng/ml se relacionaban con quistes serosos o pseudoquistes con una S 50% y E 95%¹⁷. En nuestro caso, al disminuir el punto de corte de CEA para la detección de quistes de estirpe mucinosa se aumenta la sensibilidad, pero no se modificaron los datos de especificidad probablemente debido al pequeño número de quistes de estirpe serosa incluidos y a que ninguno de ellos presentaba valores de CEA intraquísticos $\geq 128,9$ ng/ml.

Recientemente se han realizado estudios en los que demuestran que los niveles de glucosa intraquística son significativamente inferiores en lesiones de estirpe mucinosa¹¹⁵⁻¹¹⁷. Zikos et al compararon los niveles de glucosa intraquísticos mediante determinación en laboratorio, con glucómetro y en tira reactiva, siendo los resultados superiores con glucómetro, con el que obtuvieron una S 88% y E 78% para el diagnóstico de mucinoso¹¹⁶. Tras los resultados publicados por éste y por otros autores, decidimos incluir de forma prospectiva la determinación de glucosa a partir de la lesión nº 15. Realizamos su determinación en laboratorio puesto que tan solo se realizó cuando hubo contenido del quiste suficiente disponible para el análisis bioquímico tanto de CEA como de glucosa, siendo finalmente posible medir sus niveles en 16 (72,7%) de las 22 lesiones en las que se solicitó su análisis. En 5 (22,7%) lesiones no fue posible su determinación por

contenido insuficiente y en una ocasión (4,5%) por imposibilidad técnica al tratarse de un líquido de elevada viscosidad. En cualquier caso, el volumen necesario en nuestro laboratorio para su determinación (0,3 ml) fue inferior al del CEA. La mediana de los niveles de glucosa en las lesiones clasificadas como mucinosas fue de 5 (IQR 0-28) mg/dl mientras que en las no mucinosas fue de 101 (IQR 88-120) mg/dl. En nuestro estudio los niveles < 50mg/dl ofrecieron una S 83,3 %, E 100%, VPP 100% y VPN 66,7% para el diagnóstico de estirpe mucinosa (p 0,008), y el punto de corte óptimo en nuestra muestra fue 60 mg/dl con el que la S aumento al 100% sin modificar los valores de E 100% (AUC 1) para el diagnóstico de mucinoso. Nuestros resultados son similares a los de otros autores que determinan los niveles glucosa y CEA intraquísticos para el diagnóstico de mucinosos. En el caso de Carr et al determinan las cifras CEA y de glucosa mediante glucómetro estableciendo 50mg/dl como punto de corte¹¹⁵. Como resultado obtuvieron que los niveles de glucosa intraquística proporcionaba una S 92%, una E 87% y una precisión diagnóstica del 90% para el diagnóstico de quistes mucinosos, mientras que niveles de CEA > 192ng/ml proporcionaba una S 58%, E 96% y precisión del 69%. Combinando CEA y glucosa para identificar quistes de estirpe mucinosa obtuvieron una S 95%, E 85% y precisión del 93%, optimizando así el diagnóstico por lo que recomiendan su determinación de forma habitual.

Teniendo en cuenta que la medida de los niveles de glucosa intraquísticos ofrece una buena precisión diagnóstica, al menos tan precisa como los niveles de CEA intraquísticos, que se requiere un menor volumen y es de bajo coste, se deberían realizar estudios prospectivos con un mayor tamaño muestral y plantear su determinación de forma sistemática en el estudio de lesiones quísticas de páncreas. Además, se debería establecer con claridad la forma óptima para su determinación. Una posible ventaja de la determinación con glucómetro sería la inmediatez del resultado, pudiendo incluso quedar reflejado en el informe del procedimiento. No obstante, en nuestro caso no fue posible determinar los niveles de glucosa en una de las lesiones por su elevada viscosidad, pero el glucómetro tampoco fue útil en este caso por lo que en nuestra experiencia no aportó información adicional. Proponemos, dado que el volumen del líquido es a menudo escaso, enviarlo en recipientes adecuados (tipo microcentrífuga o Eppendorf®) a laboratorio para, siempre que sea posible, realizar determinación tanto de glucosa como

de CEA. Consideramos que es probable que en un futuro la determinación de glucosa intraquística complemente, o incluso reemplace, la determinación del CEA intraquístico.

Por último, tal y como se ha expuesto previamente, otra de las determinaciones que es posible realizar con el líquido obtenido es el análisis citológico. No obstante, la citología en el diagnóstico de lesiones quísticas ofrece un bajo rendimiento diagnóstico, sobre todo en ausencia de componente sólido debido a la obtención frecuente de una muestra acelular o paucicelular⁸³, siendo la sensibilidad inferior al 50% en quistes mucinosos¹⁷. Se ha descrito que el empleo de tinciones especiales como la de mucinas permite aumentar la sensibilidad para la detección de quistes de estirpe mucinosa. Por ello, **en todas las lesiones incluidas realizamos análisis citológico y tinción de mucinas con azul alcian obteniendo una S 78,6% y una E 100% para el diagnóstico de mucinoso (p 0,001).** En el estudio de Morris et al encontraron que con la tinción de mucinas aumentaban la sensibilidad hasta el 80% para la detección de lesiones de estirpe mucinosa, aunque con una especificidad del 40%¹⁰⁹. En cambio, otros autores como Streitz et al obtuvieron mejores resultados con una S 95%, E 100%, valor VPP 100% y VPN 88% para el diagnóstico de neoplasias quísticas mucinosas¹¹¹. Se han descrito como posibles errores en la interpretación citológica la contaminación por células de la mucosa gástrica con células productoras de mucina, que pueden confundirse con la mucina o epitelio mucinoso de las lesiones quísticas mucinosas⁹¹. Por ello es importante contar con un anatomopatólogo experto en la interpretación citológica y que relacione los hallazgos con la historia clínica, los hallazgos por imagen y el sitio de punción. En nuestra serie todas las muestras fueron evaluadas por dos citopatólogos expertos quienes, por las características del estudio y con la finalidad de aumentar su validez, desconocían la sospecha diagnóstica mediante métodos de imagen radiológicos y endosonográficos. **Consideramos que, dado que la tinción con azul alcian es una técnica sencilla, de bajo coste, y que aporta información adicional en el contexto clínico adecuado, se podría realizar de forma sistemática en la interpretación citológica de las NQP en ausencia de células que orienten a malignidad o al tipo específico de quiste.**

Las principales fortalezas de nuestro estudio son que se trata de un estudio prospectivo con una cohorte de pacientes con lesiones representativas de las principales estirpes lesionales (82,4% quistes mucinosos y 17,6% no mucinosos) y de malignidad (13,8%) en el que se refleja la práctica clínica habitual en el estudio y decisión terapéutica de las

neoplasias quísticas pancreáticas, y por tanto nuestra experiencia es trasladable a la práctica clínica de cualquier otro centro con acceso a técnicas de estudio pancreático. Adicionalmente realizamos un estudio molecular de las lesiones aportando información adicional en su diagnóstico.

No obstante, nuestro trabajo de tesis tiene varias limitaciones. En primer lugar, se trata de un estudio unicéntrico y basado en la experiencia de un solo endosonografista, lo cual podría sesgar los resultados. En segundo lugar, cabe destacar que el diagnóstico mediante criterios morfológicos, citológicos y bioquímicos es subóptimo y tan solo disponemos de análisis anatomopatológico en 5 de las 36 lesiones (13,9%) incluidas en el estudio. De hecho, tal y como hemos descrito en 2 casos hubiésemos modificado el diagnóstico tras la realización del análisis molecular teniendo en cuenta la elevada especificidad asociada al mismo. No obstante, consideramos que nuestra forma de clasificar las lesiones es una buena opción en la práctica clínica habitual, en la que el diagnóstico se realiza con los datos disponibles en ausencia de pieza quirúrgica basada en la evidencia científica y las recomendaciones de las guías clínicas, y el seguimiento por tanto ha de ser acorde con el diagnóstico establecido. En tercer lugar, en nuestra muestra, la ausencia de desarrollo de malignidad, definido por la ausencia de progresión en pruebas de imagen ni deterioro clínico tras un seguimiento no inferior a 6 meses realizado en todos los pacientes, apoya el diagnóstico de ausencia de malignidad establecido en las lesiones clasificadas como no malignas, siendo la mediana de seguimiento en nuestro estudio 472 (IQR 271-619) días. Sin embargo, el periodo de seguimiento podría considerarse corto y se desconoce si los pacientes hubiesen podido desarrollar malignidad durante un periodo de seguimiento más largo. En cuarto lugar, cabe destacar el pequeño tamaño muestral del estudio, que se ha debido al marco temporal estrecho en el que ha sido realizado y a los criterios de inclusión establecidos, lo que ha condicionado que no se alcanzase significación estadística en varios de los objetivos del estudio. En quinto lugar, se incluyeron exclusivamente aquellas lesiones > 15mm siguiendo las recomendaciones de la guía Europea³⁰, habiéndose descartado otras lesiones < 15mm potencialmente incluíbles aun a pesar de haberse descrito presencia de malignidad hasta en el 39% de los quistes sintomáticos < 2cm²¹³.

Por último, destacamos que, aunque consideramos que el análisis molecular presenta una elevada utilidad para la detección de quistes de estirpe mucinosa, su determinación

asocia un elevado coste por lo que su aplicabilidad en la práctica clínica habitual puede estar limitada. En relación al estudio molecular mediante tNGS de las mutaciones presentes en el DNA extraídos del líquido de quistes pancreáticos y teniendo en cuenta la experiencia que hemos adquirido, nos gustaría resaltar que hemos identificado una serie de factores a tener muy en cuenta en el diseño de futuros estudios con características u objetivos similares al presente trabajo:

1. **Necesidad de incrementar el tamaño muestral.** Dos son los hechos clave a tener en cuenta en este apartado:
 - a. En torno al 30% de las muestras obtenidas no podrán ser analizadas debido a criterios técnicos relacionados con la baja cantidad de ADN extraído y a técnica instrumental elegida: tNGS
 - b. Las asociaciones significativas entre la presencia de mutaciones y el tipo de quiste son difíciles de observar en cohorte de pequeño tamaño muestral, en particular en la detección de quistes mucinosos malignos, ya que éstos son una pequeña fracción del total de quistes que son intervenidos en la práctica clínica habitual.
2. **Numero de genes y exones incluidos.** En nuestra serie incluimos 32 genes con cobertura completa de exones. Se han descrito asociaciones entre mutaciones deletéreas en algunos genes y malignidad, pero éstas se encuentran a unas frecuencias bajas que pueden no ser correctamente analizadas en este tipo de estudios. Aunque inicialmente incluimos un número significativo de genes tomando en consideración la bibliografía reciente, creemos que es preferible restringir el análisis a un grupo más reducido, como son por ejemplo *GNAS* y *KRAS*, en donde mutaciones deletéreas han sido detectadas en una proporción significativa de muestras. Además, probablemente el número de exones analizados dentro de cada gen debería haber sido menor, ya que al analizar un número menor de exones habría crecido la profundidad alcanzada en la secuenciación con la tNGS y por consiguiente el poder estadístico de los resultados.
3. **Técnica elegida.** En estrecha relación con el apartado anterior. La cobertura obtenida en nuestro estudio fue del 100X en el 100% de las muestras y de 400X en alrededor del 50% de las mismas. El analizar un número menor de regiones (exones) hubiera incrementado la profundidad de la secuenciación. Finalmente, quizás utilizar otras

técnicas más dirigidas como la qRT PCR y secuenciación Sanger de los exones clave podría haber arrojado mejores resultados en estudios con cohorte de pequeño tamaño.

En resumen, la implementación de estos puntos posiblemente habría ayudado a la consecución con resultados estadísticamente significativos de alguno de los objetivos planteados en el presente estudio.


7. CONCLUSIONES

1. El análisis molecular del líquido de los quistes pancreáticos obtenido por ecoendoscopia permite una adecuada categorización de los quistes en función de su estirpe mucinosa o serosa.
2. Las mutaciones detectadas en nuestra muestra no alcanzan la potencia diagnóstica suficiente para el diagnóstico de malignidad asociado en estas lesiones.
3. La USE-PAAF es una técnica segura en el estudio de neoplasias quísticas pancreáticas.
4. El antecedente familiar de cáncer de páncreas, la presencia de síntomas y el tamaño ≥ 3 cm se relacionaron de forma estadísticamente significativa con malignidad.
5. Los criterios morfológicos radiológicos detectaron con mayor sensibilidad la presencia de malignidad mientras que los criterios morfológicos endosonográficos fueron superiores para la detección de lesiones de estirpe mucinosa.
6. La USE-PAAF mediante la combinación de criterios morfológicos, bioquímicos y citológicos fue superior a los criterios morfológicos radiológicos en la caracterización de la estirpe de los quistes pancreáticos y modificó la actitud mediante la recomendación de cirugía o de interrumpir el seguimiento en 1 de cada 5 pacientes.
7. La ecoendoscopia con empleo de ecopotenciadores mejora la detección de nódulos murales frente a métodos de imagen radiológicos, orientando al diagnóstico de quistes de estirpe mucinosa. Adicionalmente, la evaluación del patrón de captación de contraste de sus septos y paredes, contribuye en la detección de aquellos con malignidad.
8. Los niveles de glucosa < 50 mg/d y de CEA ≥ 192 ng/ml se relacionaron de forma estadísticamente significativa con quistes de estirpe mucinosa. En nuestra serie los puntos de corte óptimos para la detección de quistes de estirpe mucinosa se situaron en CEA $\geq 128,9$ ng/ml y glucosa < 60 mg/dl.
9. La citología con empleo de azul alcian para la detección de mucinas ofreció una

elevada sensibilidad y especificidad para la detección de lesiones de estirpe mucinosa.

ANEXOS

ANEXO A. CONSENTIMIENTO INFORMADO

 C/Diego de León 62 28006 Madrid	NHC: Nombre: Apellidos: Sexo: Fecha de nacimiento: CIP: Dirección del paciente:
ANEXO A. CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA EL PACIENTE SOBRE EL ESTUDIO DE LA UTILIDAD DEL ANÁLISIS MOLECULAR Y DE LA APLICACIÓN DE ECOPOTENCIADORES EN EL ESTUDIO DE LAS NEOPLASIAS QUÍSTICAS PANCREÁTICAS.	

UTILIDAD DEL ANÁLISIS MOLECULAR Y DE LA APLICACIÓN DE ECOPOTENCIADORES EN EL ESTUDIO DE LAS NEOPLASIAS QUÍSTICAS PANCREÁTICAS

Versión 1.2. 04 de junio de 2017

INTRODUCCIÓN


Nos dirigimos a Usted para invitarle a colaborar en un proyecto de investigación. Queremos que reciba la información para que pueda elegir si quiere o no participar. Le rogamos que lea esta hoja informativa con atención y le aclararemos las dudas que le puedan surgir.

La precisión diagnóstica de las lesiones quísticas pancreáticas mediante el empleo exclusivo de la clínica y características morfológicas por técnicas de imagen por lo general es insuficiente por lo que se recomienda realizar punción de dichas lesiones dentro de la práctica clínica habitual para analizar las características de su contenido y así optimizar el diagnóstico y tratamiento. En el presente estudio se pretende demostrar cómo el empleo de contraste ecográfico durante la realización de la ecoendoscopia va a ayudar a definir las características morfológicas de estas lesiones, a dirigir la punción para mejorar la calidad de la muestra y aumentar la seguridad del procedimiento sin añadir efectos secundarios significativos. De igual forma el estudio de marcadores en el contenido líquido del quiste ha demostrado en estudios previos optimizar el tratamiento de éstas lesiones, no obstante, todavía no se emplea en la práctica clínica habitual. Por ello le pedimos que colabore en este estudio para investigar si el análisis molecular del contenido líquido, que de cualquier forma sería analizado para realizar otras determinaciones según la práctica clínica habitual, podría añadir información y ayudar en el tratamiento de estas lesiones identificando de forma más fiable aquellas lesiones que pudieran tener un comportamiento sospechoso.

El presente estudio ha sido aprobado por el Comité de Investigación y Ética Y NO AÑADE UN MAYOR RIESGO DE COMPLICACIONES O DE EFECTOS ADVERSOS SIGNIFICATIVOS AL PROCEDIMIENTO DE ECOENDOSCOPIA Y PUNCIÓN CONVENCIONAL. La información obtenida de su participación en el estudio quedará registrada en un fichero codificado y confidencial restringiendo su uso exclusivamente a la finalidad del estudio en curso.

EN QUÉ CONSISTE:

Su médico le ha indicado la realización de una ecoendoscopia digestiva alta con punción para el estudio de su lesión quística pancreática. Esta prueba consiste, como ya ha leído en el consentimiento pertinente, en la introducción de un tubo flexible por la boca que lleva incorporado un transductor ecográfico en su extremo para permitir una visión ecográfica del tracto digestivo superior, área pancreática y biliar, y estructuras vecinas al tubo digestivo. Si Usted nos autoriza, tras valorar detenidamente el área pancreática procederemos a la administración de contraste ecográfico (Sonovue®) que permitirá valorar la vascularización de la lesión y dirigir la punción al área más rentable. Su empleo no se realiza de forma rutinaria pero puede mejorar el rendimiento de la prueba y son seguros, presentando una tasa de efectos adversos muy baja. Estas imágenes serán grabadas para poder revisar las imágenes tras su realización.

 <p>C/Diego de León 62 28006 Madrid</p>	<p>NHC: Nombre: Apellidos: Sexo: Fecha de nacimiento: CIP: Dirección del paciente:</p>
<p>ANEXO A. CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA EL PACIENTE SOBRE EL ESTUDIO DE LA UTILIDAD DEL ANÁLISIS MOLECULAR Y DE LA APLICACIÓN DE ECOPOTENCIADORES EN EL ESTUDIO DE LAS NEOPLASIAS QUÍSTICAS PANCREÁTICAS.</p>	

Posteriormente se llevará a cabo la punción de la lesión guiada por ecoendoscopia para completar su estudio y se enviará el líquido para analizar según la práctica asistencial habitual. Dicha exploración será realizada en condiciones de sedación profunda por lo que se colocará una vía periférica. Durante su colocación y sin añadir efectos adversos u otras molestias, siempre que usted lo permita, se extraerá una muestra de sangre para su almacenamiento. Es posible que esta muestra sea empleada durante éste estudio u otros futuros, siempre que Usted lo permita, para el estudio de marcadores que puedan orientar el diagnóstico.

El líquido obtenido del quiste será enviado para la realización de citología y análisis bioquímico, no modificándose la práctica clínica habitual. En el presente estudio, si da su autorización, también se enviará parte del líquido extraído para análisis molecular con la finalidad de investigar posibles mutaciones que ayuden a orientar el tipo de quiste y su potencial de malignidad pero en ningún caso se modificará la indicación de la punción ni se modificará la cuantía de líquido extraído. Emplearemos el líquido que de otra forma sería desechado. Si Usted lo consiente se podrán realizar estudios genéticos adicionales con sus muestras. En ese caso, Usted podrá contactarnos y recibir los resultados de los análisis. En cualquier caso las muestras serán codificadas para asegurar la confidencialidad y almacenadas en la unidad de Biología Molecular del Hospital Universitario de La Princesa hasta su utilización.

La finalidad del estudio es determinar si la administración de contraste ecográfico optimiza la caracterización de las lesiones y aumenta el rendimiento diagnóstico de la citología ("patrón oro" del diagnóstico de estas lesiones), si el análisis molecular permite una mejor detección de los quistes premalignos y malignos, y si de esta forma se podría mejorar el tratamiento de estas lesiones.


Mediante el presente consentimiento solicitamos su aceptación para el empleo adicional de contraste ecográfico (Sonovue®) y el análisis molecular del contenido de la punción pero la participación en el estudio no representa un cambio en las pruebas que se le van a realizar (ecoendoscopia con punción y análisis del líquido) . En ningún caso se realizará ecoendoscopia con punción dirigido exclusivamente para la obtención de muestras para este proyecto de investigación. El procedimiento se prolongará 5-10 minutos con el empleo de contraste ecográfico. Si usted lo desea podrá contactarnos y recibir los resultados de los análisis. Las decisiones sobre el diagnóstico y el tratamiento dependerán únicamente de sus médicos, sin cambiar en nada por participar en este estudio.

Si usted lo desea puede donar la muestra sobrante para futuras investigaciones relacionadas con su enfermedad. Las muestras se guardarán en las instalaciones del Hospital Universitario de la Princesa en una colección registrada en el Instituto de Salud Carlos III (ref: C. 0004415), preservando su confidencialidad, de acuerdo de la legislación vigente. En el caso de que no acepte, la muestra sobrante será destruida al finalizar este estudio.

La participación en este estudio no representa ningún cambio en las pruebas que se van a realizar (ecoendoscopia con punción). Las decisiones sobre el diagnóstico y tratamiento dependerán únicamente de sus médicos, sin cambiar nada por colaborar en este estudio. No tendrá que cambiar ningún aspecto de su tratamiento.

QUÉ RIESGOS TIENE:

La administración de contraste ecográfico es muy segura y los efectos adversos son poco frecuentes al eliminarse por

 <p>C/Diego de León 62 28006 Madrid</p>	<p>NHC: Nombre: Apellidos: Sexo: Fecha de nacimiento: CIP: Dirección del paciente:</p>
<p>ANEXO A. CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA EL PACIENTE SOBRE EL ESTUDIO DE LA UTILIDAD DEL ANÁLISIS MOLECULAR Y DE LA APLICACIÓN DE ECOPOTENCIADORES EN EL ESTUDIO DE LAS NEOPLASIAS QUÍSTICAS PANCREÁTICAS.</p>	

vía respiratoria. En caso de presentarse suelen ser leves y transitorios como puede ser la presencia de dolor de cabeza, náuseas, vómitos, mareo, sensación de calor y enrojecimiento cutáneo. Las reacciones alérgicas son mucho menos frecuentes que con los contrastes empleados para la TAC o la RM y no producen toxicidad renal ni tiroidea. Deberá avisarnos en caso de alergia conocida a los contrastes ecográficos, de encontrarse embarazada, en periodo de lactancia, si ha presentado un síndrome coronario agudo (infarto cardíaco) reciente, presenta enfermedad cardíaca isquémica inestable, insuficiencia cardíaca descompensada, hipertensión severa no controlada, hipertensión pulmonar severa o trastornos severos del ritmo cardíaco puesto que en estos supuestos su empleo está contraindicado. Los efectos adversos potenciales más frecuentes son los que ya han sido descritos en el consentimiento informado pertinente, y que son debidos a la propia ecoendoscopia digestiva alta con punción y sedación (descritos en los consentimientos entregados). La realización del análisis molecular del líquido no conlleva ningún riesgo adicional y su resultado no conllevará cambios en la actitud terapéutica como se ha expuesto previamente.

¿QUÉ OTRAS ALTERNATIVAS HAY?

Su participación es voluntaria y puede cambiar su decisión en cualquier momento. Usted puede realizarse la ecoendoscopia con punción sin participar en nuestro estudio sin que ello altere su relación con su médico ni su tratamiento. Asimismo podrá retirar el consentimiento en cualquier momento. Antes de firmar este documento, si desea más información o tiene cualquier duda, no tenga reparo en preguntarnos.


BENEFICIOS DE SU PARTICIPACIÓN EN EL ESTUDIO

Si acepta participar no obtendrá beneficios médicos directos ni compensación económica alguna. Esperamos que la información obtenida de este estudio aporte beneficios para el avance del conocimiento científico y que beneficie en un futuro a personas con su patología.

CONFIDENCIALIDAD

El tratamiento, la comunicación y la cesión de datos de carácter personal de todos los sujetos participantes se ajustará a lo dispuesto en la Ley Orgánica 15/1999, del 13 de diciembre de protección de datos de carácter personal. De acuerdo con lo que establece la legislación mencionada, Usted puede ejercer los derechos de acceso, modificación, oposición y cancelación de datos, para lo cual deberá dirigirse a su médico del estudio.

Sus datos serán identificados mediante un código y sólo los médicos del estudio podrán relacionar dichos datos con Usted y su historia clínica. Su identidad no será revelada, salvo en caso de urgencia médica o requerimiento legal. Sólo los médicos que tratan y los miembros del equipo de investigación tendrán acceso a los datos adicionales (análisis molecular) obtenidos. Su historial clínico podrá ser revisado de forma anónima por el Comité Ético de Investigación del Hospital o del Ministerio de Sanidad, como parte de las auditorías que pudieran plantearse. Los resultados obtenidos podrán ser publicados en revistas especializadas, sin identificar en ningún caso a los pacientes. En caso de necesitarse información adicional para completar el estudio, los responsables podrán ponerse en contacto con Usted.

 <p>C/Diego de León 62 28006 Madrid</p>	<p>NHC: Nombre: Apellidos: Sexo: Fecha de nacimiento: CIP: Dirección del paciente:</p>
<p>ANEXO A. CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA EL PACIENTE SOBRE EL ESTUDIO DE LA UTILIDAD DEL ANÁLISIS MOLECULAR Y DE LA APLICACIÓN DE ECOPOTENCIADORES EN EL ESTUDIO DE LAS NEOPLASIAS QUÍSTICAS PANCREÁTICAS.</p>	

DATOS DE CONTACTO

Usted tendrá a su disposición un equipo de profesionales sanitarios a los que podrá preguntar cualquier duda relativa al estudio. En caso de necesitar información o aclaración podrá contactar con los investigadores coordinadores del estudio: Dra. Raquel Herranz, Dr. Felipe de la Morena, Pedro Majano y Dr. Cecilio Santander en el Servicio de Aparato Digestivo del Hospital Universitario de La Princesa, C/Diego de León 62, 3ª planta, 28006 Madrid.

FORMULARIO DE CONSENTIMIENTO INFORMADO POR ESCRITO:

Yo, D.Dña..... (nombre y apellidos),

Por favor marque las casillas si está de acuerdo con su contenido:

Sí ☐ No ☐ He podido preguntar al Dr. Felipe de la Morena todas las dudas que he tenido acerca del proyecto.

Sí ☐ No ☐ Estoy de acuerdo en participar en el proyecto en el que, además de la práctica clínica habitual, se empleará contraste durante la ecoendoscopia y se realizará análisis molecular del contenido del quiste, y sé que puedo retirar mi consentimiento en cualquier momento y sin dar explicaciones sin que ello repercuta en mis cuidados médicos futuros.

Sí ☐ No ☐ Consiento que los investigadores tengan acceso a mis datos médicos, que serán absolutamente confidenciales. Estos datos podrán ser incluidos, de forma anónima, en las publicaciones que se deriven del proyecto.

Versión 01 de junio de 2017.

<p>Firma del INVESTIGADOR que obtiene el consentimiento informado</p> <p>Dr./Dra.</p> <p>En a de del 20....</p>	<p>Firma del PARTICIPANTE:</p> <p>Don/Doña</p> <p>En a de del 20....</p>
<p>Firma del TESTIGO (si procede)</p> <p>Don/Doña</p> <p>En a de del 20....</p>	<p>Firma del REPRESENTANTE LEGAL (si procede)</p> <p>Don/Doña</p> <p>En a de del 20....</p>

ANEXO B. VALORACIÓN POR EL COMITÉ DE ÉTICA DEL HULP



COMITÉ DE ÉTICA DE LA INVESTIGACIÓN CON MEDICAMENTOS

Madrid, a 13 de Junio de 2017

El Comité de Ética de La Investigación con Medicamentos del Hospital Universitario de la Princesa en su reunión del día 08-06-2017 (acta 11/17) evaluó la respuesta a las aclaraciones solicitadas del siguiente proyecto de investigación:

TÍTULO: Utilidad del análisis molecular y de la aplicación de ecopotenciadores en el estudio de las neoplasias quísticas pancreáticas.

TIPO: proyecto de investigación

Nº de Registro: 3092

Investigador Principal: Felipe de la Morena (Servicio de Digestivo)

Decisión tomada: Aprobación (8-06-17)

Este Comité de Ética de La Investigación con Medicamentos considera que tanto el **proyecto de investigación** como la **Hoja de información al paciente y Consentimiento informado, de versión 1.2: 04 de junio de 2017**, son **ética y metodológicamente aceptables**. Asimismo, considera que los investigadores son competentes para llevar a cabo este proyecto que está enmarcado dentro de las líneas de investigación prioritarias del Hospital Universitario de La Princesa.


Fdo: **Dra. Mª de Mar Ortega Gómez**
Secretaria del C.E.I.m.

ANEXO C. HOJA DE RECOGIDA DE DATOS

1) CARACTERÍSTICAS DEL PACIENTE

- Nº paciente
- Fecha nacimiento
- Edad
- Sexo
- Clasificación del riesgo anestésico (ASA)
- Tratamiento activo con anticoagulantes/antiagregantes (si/no)
- Episodios previos de pancreatitis aguda (si/no)
- Forma de presentación (sintomática/asintomática)
- Antecedente de neoplasia maligna conocida (si/no)
- Tabaquismo (si/no)
- Antecedentes familiares cáncer de páncreas (si/no)

2) JUICIO CLÍNICO POR RADIODIAGNÓSTICO (maligno/no agresivo)

3) PROCEDIMIENTO USE

- Fecha
- Juicio clínico por USE (maligno, TPMI-RL, TPMI-CP, NQS, NQM)
- Criterios morfológicos:
 - Localización (cabeza/cuerpo/cola)
 - Tamaño (mm)
 - Multifocalidad (si/no)
 - Diámetro conducto pancreático principal (mm)
 - Dilatación conducto pancreático principal (si/no)
 - Nódulo mural (si/no/falso)
- Patrón de captación de contraste (hipo/isocaptante, hipercaptante, componente sólido hipo/paredes hipercaptantes)
- Complicaciones (si/no)
- Tipo complicación (infección/hemorragia/pancreatitis aguda/otras)

4) ANÁLISIS DEL LÍQUIDO:

- **Bioquímico:**
 - CEA (ng/ml)
 - Amilasa (U/L)
 - Glucosa (mg/dl)
- **Citológico:**
 - Clasificación Papanicolaou (I-VI)
 - Mucinas (si/no)

- Marcadores moleculares
 - Posibilidad de realizar su determinación (si/no)
 - Genes mutados:

5) CIRUGÍA:

- Intervención quirúrgica (si/no)
- Diagnóstico quirúrgico

6) SEGUIMIENTO

- Crecimiento durante el seguimiento (si/no)
- Malignidad durante el seguimiento (si/no)
- Éxito relacionado (si/no)

7) MALIGNIDAD (si/no)

ANEXO D. TRABAJOS PUBLICADOS Y COMUNICACIONES A CONGRESOS

DOI: <http://dx.doi.org/10.22516/25007440.242>

Revisión de tema

Neoplasias quísticas pancreáticas: enfoque diagnóstico

Diagnostic Approach to Cystic Pancreatic Neoplasms

Raquel Herranz Pérez,¹ Felipe de la Morena López,² Cecilio Santander Vaquero.³

¹ Médico gastroenterólogo del Hospital Universitario de La Princesa, Madrid, España.

² Médico Gastroenterólogo del Hospital Universitario de La Princesa, Madrid, España.

³ Jefe del Servicio de Gastroenterología del Hospital Universitario de La Princesa, Madrid, España.

Fecha recibido: 04/04/18
Fecha aceptado: 20/06/18

Resumen

Los quistes pancreáticos comprenden una amplia variedad de lesiones cada vez más frecuentemente diagnosticadas debido tanto al empleo creciente de técnicas de imagen como al envejecimiento de la población. Entre ellas, las neoplasias quísticas mucinosas son especialmente relevantes por su potencial de malignización. Aunque la ecografía abdominal, la tomografía axial computarizada y la resonancia magnética suelen ser las pruebas diagnósticas de imagen iniciales, muchas veces los hallazgos morfológicos no son suficientes para su diferenciación. La ecoendoscopia se ha convertido en la mejor prueba para su caracterización ya que permite realizar estudio morfológico y también del líquido obtenido mediante punción, aunque su precisión diagnóstica para la detección de quistes de estirpe mucinosa y de malignidad sigue siendo baja. La importancia de la adecuada caracterización radica tanto en la detección precoz de las lesiones preneoplásicas y malignas como en evitar cirugías innecesarias. La indicación de ecoendoscopia, de tratamiento quirúrgico y de seguimiento varía entre las distintas guías de práctica clínica estando actualmente en duda especialmente el tratamiento y seguimiento de las neoplasias quísticas mucinosas papilares intraductales de rama lateral por el menor riesgo de degeneración y su asociación con el cáncer de páncreas.

Palabras clave

Neoplasias quísticas pancreáticas, neoplasia quística mucinosa, análisis molecular, ecoendoscopia.

Abstract

Cystic pancreatic lesions comprise a wide variety of lesions that are being increasingly diagnosed due to the more frequent use of imaging techniques and the aging of the population. Among these lesions, mucinous cystic neoplasms are especially relevant because of their malignant potential. Although abdominal ultrasound, computerized tomography and magnetic resonance imaging are usually the initial diagnostic imaging tests, morphological findings are often not enough for their differentiation. Endoscopic ultrasound has become the best test for their characterization because it allows morphological study and fluid analysis obtained by puncture of the lesion, although its diagnostic accuracy for the detection of mucinous and malignant cysts remains low. The importance of proper characterization is the early detection of preneoplastic as well as malignant lesions and to avoid unnecessary surgery. Clinical practice guidelines differ about the indications for endoscopic ultrasound, surgical treatment and follow-up of these lesions. Questions specially remains in the management of side-branch intraductal papillary neoplasm because of their lower risk of degeneration and their association with pancreatic cancer.

Keywords

Pancreatic cystic neoplasms, mucinous cystic neoplasm, molecular analysis, endoscopic ultrasound.

INTRODUCCIÓN

Como resultado del aumento de resonancias magnéticas (RM) y tomografías axiales computarizadas (TAC) abdominales que se realizan actualmente se ha experimentado un aumento en el número de quistes pancreáticos diagnosticados, que a su vez son de menor tamaño, identificándose en un 3 % de los TAC y hasta un 20 % de las RM realizadas por otros motivos (1, 2). Adicionalmente, múltiples estudios han demostrado que la prevalencia de estas lesiones aumenta con la edad (3, 4), lo cual implica un consecuente aumento del número de quistes pancreáticos con el envejecimiento actual de la población. En un reciente estudio prospectivo de cohortes poblacionales tras la realización de colangiografía por resonancia magnética (colangio-RM) se llegaron a encontrar quistes pancreáticos hasta en el 49,1 % de la población del estudio, aunque se estableció un bajo punto de corte (tamaño: 2 mm) (3). No obstante, la mayor parte de estas lesiones se diagnostican de forma incidental y generalmente son inferiores a 10 mm (3, 5, 6). Este aumento en el número de quistes diagnosticados puede generar un elevado grado de preocupación tanto en pacientes como en médicos debido al potencial de malignización de algunos de ellos y a que no siempre se llega al diagnóstico de certeza, lo que genera en ocasiones la realización de múltiples pruebas costosas, en ocasiones invasivas, e incluso su resección de forma innecesaria que conlleva una no despreciable morbimortalidad.

Las lesiones quísticas pancreáticas engloban una amplia variedad de lesiones incluyendo las lesiones neoplásicas y no neoplásicas (**Tabla 1**). Dentro del grupo de las no neoplásicas la más frecuente es el pseudoquiste y es importante diferenciarlo de aquellas lesiones neoplásicas, como las neoplasias quísticas pancreáticas (NQP) verdaderas con las que en ocasiones es difícil la diferenciación exclusivamente por criterios morfológicos. Además, tan solo alrededor del 4 % de los quistes asintomáticos será pseudoquistes, siendo la mayoría NQP (7).

La importancia de la correcta identificación de estas lesiones quísticas radica en el potencial de malignidad que presentan algunas de estas, como son la neoplasia quística pseudopapilar, las neoplasias sólidas con degeneración quística y los quistes de estirpe mucinosa, englobándose dentro de esta última categoría la NQM y la neoplasia mucinosa papilar intraductal (IPMN). Las IPMN pueden ser de conducto principal (MD-IPMN), de rama lateral (BD-IPMN) o mixtas. No todas las neoplasias mucinosas presentan el mismo potencial de degeneración. Según publicaciones recientes, las NQM presentan un potencial de malignidad que oscila entre el 10 % y el 17 % (8, 9), las MD-IPMN del 38 %-68 % (8, 10, 11), las BD-IPMN del 12 %-47 % (8, 10) y del 8 %-20 % para las neoplasias sólidas pseudopapilares (8). En cambio, los quistes serosos, los

quistes simples y los linfopiteliales se consideran quistes benignos (8), aunque anecdóticamente hay quistes serosos en los que se ha descrito progresión a malignidad (12).

El cáncer de páncreas es una de las causas más frecuentes de muerte relacionada con cáncer y tiene mal pronóstico en el momento del diagnóstico con una supervivencia a 5 años <10 % si se tienen en cuenta todos los tumores, y del 25 % si se consideran solo aquellas lesiones localizadas (13), presentando una mortalidad anual que casi iguala a su morbilidad. Tan solo un 20 %-25 % de los cánceres de páncreas van a ser candidatos a tratamiento quirúrgico al diagnóstico y un 80 % de estas presentarán recurrencia a pesar de la cirugía, por lo que el diagnóstico y tratamiento precoces son fundamentales, siendo de gran importancia la identificación de las lesiones precursoras de adenocarcinoma pancreático, que son las neoplasias pancreáticas intraepiteliales (PanIN) y las NQP (14). Se estima que las lesiones precursoras requieren una media de 11,7 años para evolucionar a malignidad y tardan otros 6,8 años adicionales en metastatizar (15), por lo que teóricamente existe un espacio temporal (ventana diagnóstica) suficiente para detectar estas lesiones de forma precoz. No obstante, en términos generales, el riesgo de malignidad de las NQP detectadas de forma incidental es bajo y representan un 1 %-5 % del total de neoplasias pancreáticas malignas (16).

Tabla 1. Clasificación de las lesiones quísticas pancreáticas

Tipo de quiste	Lesión
No neoplásicos	Pseudoquistes Quistes de retención Quistes verdaderos o epiteliales Quistes linfopiteliales
Quistes neoplásicos	NQP NQS NQM IPMN BD-IPMN MD-IPMN IPMN mixto Neoplasia sólida pseudopapilar Neoplasias sólidas con componente quístico

NQP: neoplasia quística pancreática; NQS: neoplasia quística serosa; NQM: neoplasia quística mucinosa; IPMN: neoplasia mucinosa papilar intraductal; BD-IPMN: neoplasia mucinosa papilar intraductal de rama lateral; MD-IPMN: neoplasia mucinosa papilar intraductal de rama principal.

DIAGNÓSTICO

Ante el hallazgo de un quiste pancreático el primer paso debe ser diferenciar entre pseudoquiste y NQP fundamentalmente mediante la combinación de historia clínica, antecedentes de pancreatitis, características por imagen y análisis

del líquido citológico y bioquímico. Es importante tener en cuenta que los pacientes con neoplasias quísticas pueden presentar pancreatitis y que otros sin antecedente aparente de pancreatitis aguda pueden presentar pseudoquistes (17). El siguiente objetivo diagnóstico debe ser diferenciar entre NQP, detectar las que presentan potencial de malignización (mucinosas y neoplasia sólida pseudopapilar); y, por último, determinar aquellas con sospecha de malignidad.

La aproximación diagnóstica de los quistes pancreáticos está en continua evolución. La mayor parte se detectan de forma incidental en una prueba de imagen radiológica realizada por otros motivos (TAC o RM). La RM es la prueba radiológica de elección para el diagnóstico y seguimiento de las NQP dado que, por su mayor resolución espacial, ofrece mayor sensibilidad para la identificación de lesiones sólidas pancreáticas de pequeño tamaño y, con la secuencia de colangio-RM, permite detectar lesiones quísticas de menor tamaño, definir mejor la afectación del conducto pancreático principal (CPP), la comunicación con este, la presencia de nódulos murales y de septos (18). En cambio, la TAC es de elección para aquellos con sospecha de comportamiento maligno o enfermedad avanzada, detectando la posible invasión local de estructuras y de metástasis (17). No obstante, la precisión para diferenciar entre los distintos tipos de quistes y el riesgo de malignidad solo por criterios clínicos y morfológicos es subóptima dado que las diferentes lesiones pueden presentar características similares, siendo la precisión diagnóstica para determinar el tipo de quiste del 40 %-95 % para la RM/colangio-RM y del 40 %-81 % para la TAC (18).

La ecoendoscopia (ultrasonido endoscópico [USE]) permite valorar los criterios morfológicos y la realización de punción y análisis del líquido (19). Las características endosonográficas que se han relacionado con malignidad son el tamaño superior a 3 cm, la presencia de componente sólido, el engrosamiento mural, la dilatación del Wirsung, el cambio abrupto del calibre del CPP, atrofia distal de la glándula pancreática y la presencia de linfadenopatías (1, 10). Pero al igual que con otras técnicas de imagen, las características endosonográficas no son suficientes como predictor individual de malignidad. El tamaño >3 cm se asocia con baja sensibilidad y especificidad (74 % y 49 % respectivamente) para el diagnóstico de neoplasia avanzada (14), y se ha descrito malignidad en lesiones de tamaño inferior (20). La elastografía por ecoendoscopia es una técnica complementaria que, aunque no ha demostrado utilidad en la evaluación de las lesiones quísticas pancreáticas, podría ser empleada para la evaluación de lesiones sólidas pancreáticas (5).

La punción-aspiración con aguja fina guiada por USE (USE-PAAF) es una técnica segura que permite realizar el estudio morfológico de la lesión y la punción-aspiración de su contenido. En un estudio reciente de Kashab y colabora-

dores se concluyó que la realización de USE-PAAF añadida al TAC o a la RM aumenta la precisión para el diagnóstico de neoplasia en lesiones quísticas en un 36 % y 54 %, respectivamente (21). Al permitir optimizar el diagnóstico y, por tanto, modificar el manejo de estos pacientes, la USE-PAAF se ha convertido en la técnica de elección en el diagnóstico de lesiones pancreáticas (19).

Con el líquido obtenido es posible realizar el estudio citológico, bioquímico y molecular que permitirá definir el tipo de quiste y, en el caso de la citología, detectar la presencia de malignidad (Tabla 2). La citología ofrece un bajo rendimiento diagnóstico con una sensibilidad inferior al 50 % en quistes mucinosos debido a la obtención frecuente de una muestra acelular o paucicelular (22); sin embargo, es de gran utilidad cuando proporciona un diagnóstico específico (1, 23), y existen estrategias para aumentar su rendimiento como es el empleo de contraste para visualizar el posible componente sólido y dirigir sobre este la obtención de la muestra, evitando áreas de moco o detrito (24).

De forma generalizada se recomienda complementar el estudio del líquido mediante el vaciado completo y la obtención del contenido para realizar análisis bioquímico determinando niveles de amilasa, CEA y, según la evidencia reciente, también de glucosa (25, 26). Unos niveles bajos de amilasa (<250 U/L) excluyen el diagnóstico de pseudoquiste con una especificidad del 98 % (22), mientras que niveles elevados orientan hacia IPMN o pseudoquiste, aunque al haberse encontrado valores de amilasa elevados en NQP sin comunicación con el CPP sus niveles no se consideran clínicamente relevantes para el diagnóstico diferencial entre diferentes tipos de NQP (27). Los niveles de CEA contribuyen a diferenciar lesiones mucinosas de no mucinosas, pero el punto de corte óptimo no ha sido establecido. El más empleado es 192 ng/mL con una sensibilidad del 73 %, especificidad del 84 % y precisión diagnóstica del 79 % (26). Los niveles de CEA han demostrado superioridad respecto a otros marcadores tumorales estudiados como el CA 19,9, CA 72,4 o el CA 15,3. Recientemente se han publicado estudios que describen que los quistes de estirpe mucinosa contienen niveles inferiores de glucosa que aquellos no mucinosos (25), siendo esta determinación especialmente útil debido a su bajo coste. En concreto, en el estudio de Zikos y colaboradores obtuvieron una sensibilidad y especificidad para la detección de quistes mucinosos con su determinación en laboratorio del 95 % y 57 % respectivamente, y del 88 % y 78 % respectivamente con glucómetro, con 50 mg/dL como punto de corte (25). No obstante, ni los niveles de glucosa ni los de CEA se han relacionado con malignidad. Finalmente, conviene resaltar que a pesar del empleo de criterios morfológicos y del análisis citológico y bioquímico, el diagnóstico en ocasiones sigue siendo subóptimo (28).

Tabla 2. Características generales de los quistes pancreáticos más frecuentes

Parámetros	Pseudoquistes	IPMN (BD y MD)	NQM	NQS
Epidemiología	Antecedentes de pancreatitis, abuso de alcohol Hombres de edad media	NQP más frecuente Pacientes >50 años, sin claras diferencias entre ambos sexos	Casi exclusivo de mujeres Edad media: 40-50 años	Generalmente mujeres Edad media: >60 años
Localización	Frecuentes en cola pancreática Tamaño variable	Frecuentes en cabeza pancreática A veces multifocales	En cuerpo y cola pancreáticas Lesiones únicas	Sin predisposición de lugar
Morfología	Generalmente quistes uniloculares, peripancreáticos, con detritos en su interior Cambios inflamatorios en el parénquima circundante	MD: dilatación difusa o segmentaria del CPP sin causa obstructiva BD: espacios quísticos separados por septos internos y comunicados con el CPP, a veces multifocales	Generalmente quistes únicos, a veces con septos y en ocasiones nódulos murales y calcificaciones	Frecuentemente microquístico; menos frecuentes: oligo/macroquísticos 20 %-30 % cicatriz central estrellada
USE	Lesión unilocular no septada, anecoica, con detritos internos (no nódulos); pared gruesa Cambios de pancreatitis aguda/crónica	MD: dilatación segmentaria o difusa del CPP con posibles nódulos o crecimiento papilar en su interior BD: dilatación de ramas secundarias con <i>imagen en racimo de uvas</i> , comunicación con el CPP, posibles nódulos murales	Lesiones macroquísticas, a veces septadas Ocasionalmente calcificación periférica en <i>cáscara de huevo</i> (asociada con malignidad) Sin dilatación del CPP	Múltiples quistes de pequeño tamaño en <i>panal de abeja</i> , septos internos hipervasculares, contornos en ocasiones mal definidos, dificultad para ver cicatriz central
Citología	Detrito, células inflamatorias, histiocitos Sin células epiteliales	Tinción positiva para mucina, células mucinosas epiteliales con atipia variable, escasamente celular	Estroma de tipo ovárico, células productoras de mucina con atipia variable, tinción positiva para mucina	Células cuboidales, tinción positiva para glucógeno Bajo rendimiento diagnóstico
Bioquímica	Baja viscosidad, a veces marronáceo Amilasa elevada (>250 U/L) Glucosa elevada CEA bajo (<5 ng/mL)	Viscoso, <i>string sign</i> Amilasa elevada Glucosa baja (<50 mg/dL) CEA elevado (>192 ng/mL)	Viscoso, <i>string sign</i> Amilasa generalmente baja Glucosa baja CEA elevado (>192 ng/mL)	Baja viscosidad, a veces hemático Amilasa baja Glucosa elevada CEA bajo (<5 ng/mL)
Marcadores moleculares	Sin presencia de mutaciones	Mutaciones en KRAS, GNAS y RNF43 Orientan a malignidad: TP53, PIK3CA, PTEN, CDKN2A y SMAD4	Mutaciones en KRAS y RNF43	Mutación en VHL

CEA: antígeno carcinoembrionario.

Otro punto importante es seleccionar de entre todos los pacientes diagnosticados de quistes pancreáticos aquellos que deben ser estudiados mediante USE o USE-PAAF. Varias guías como la International Association of Pancreatology (IAP) en 2012 (10) (conocida como *guía de Fukuoka*), la Guía Europea sobre NQP (6) en 2013 y, posteriormente, la American Gastroenterological Association (AGA) (23) en 2015 (**Tabla 3**), por medio de parámetros como el tamaño del quiste, la presencia de componente sólido y de la afectación del conducto pancreático principal, han tratado de identificar aquellas NQP que se benefi-

ciarían de mayor investigación empleando ecoendoscopia y punción para obtener una muestra para análisis del líquido y realizan recomendaciones de seguimiento y de tratamiento quirúrgico (1). Recientemente, tras una reunión en Sendai de la IAP realizada en 2016 y debido principalmente a las restricciones en el seguimiento de las NQP propuestas por la AGA, se llevó a cabo una actualización de las recomendaciones emitidas en la guía de 2012, publicada en 2017, en la que prestan especial interés a la importancia de la presencia de nódulos murales, y se recomienda la cirugía en caso de certeza de nódulo >5 mm en la USE por ser un hallazgo

Tabla 3. Recomendaciones de realizar USE-PAAF diagnóstica

Guía de Fukuoka 2012 sobre NQP mucinosas (actualizada 2017)	Guía europea, 2013	Guía AGA, 2015	Guía ESGE, 2017
Presencia de hallazgos sospechosos: Clínicos: pancreatitis Imagen: tamaño ≥ 3 cm, nódulo mural con realce < 5 mm, conducto pancreático principal 5-9 mm, nódulo mural sin realce, engrosamiento parietal, cambio abrupto del calibre del conducto pancreático principal con atrofia pancreática distal, linfadenopatías, aumento del CA 19,9 sérico, crecimiento del quiste > 5 mm/2 años	Emplean la USE como técnica complementaria a la TAC o RM. Consideran que la USE-PAAF puede aportar información en algunos casos, pero no lo recomiendan de forma sistemática.	Deben presentar <i>al menos 2</i> criterios sugestivos de malignidad por imagen: Tamaño ≥ 3 cm Presencia de componente sólido Dilatación del conducto pancreático principal ≥ 5 mm O presencia de cambios significativos durante el seguimiento.	Se recomienda realizar USE-PAAF si el diagnóstico preciso puede modificar el manejo del paciente, salvo en lesiones ≤ 10 mm sin estigmas de alto riesgo.

AGA: American Gastroenterological Association; ESGE: European Society of Gastrointestinal Endoscopy.

claramente relacionado con malignidad, además de mantener la recomendación de continuar el seguimiento de las IPMN (29).

Sin embargo, los resultados con el empleo de estas guías son subóptimos y han sido criticados por múltiples autores, especialmente las recomendaciones de la AGA acerca de interrumpir el seguimiento (19, 30, 31). El tratamiento y seguimiento de las BD-IPMN está especialmente poco aclarado (9, 19, 30, 32, 33). En esta línea, Lekkerkerker y colaboradores realizaron un estudio retrospectivo en el que incluyeron a 115 pacientes que fueron sometidos a resección de los quistes y evaluaron el porcentaje de cirugías innecesarias y la ausencia de detección de malignidad si se hubiesen empleado las principales guías de práctica clínica. Se concluyó que las guías IAP y la europea conllevarían mayor número de cirugías innecesarias, mientras que si se hubiesen seguido las recomendaciones de la AGA se habría evitado la cirugía en un 28 %, aunque un 12 % de las lesiones con displasia de alto grado o invasivas no se habría detectado, lo que demuestra una pérdida de sensibilidad de la AGA para la detección de malignidad (9).

La progresión de células pancreáticas ductales normales a células tumorales se caracteriza por el acúmulo de mutaciones genéticas. El análisis del ácido desoxirribonucleico (ADN) se ha investigado con el fin de contribuir en la diferenciación entre quistes mucinosos (pre malignos) de aquellos no mucinosos y para detectar malignidad (28). Diversos estudios han demostrado que existen mutaciones asociadas con un determinado tipo de quistes y que, por tanto, podrían ayudar en su adecuada caracterización (34, 35). Las IPMN se asocian con mutaciones en KRAS, GNAS

y RNF43; las NQM se asocian con mutaciones en KRAS y RNF43, pero no en GNAS; las NQS pueden presentar mutaciones en VHL; y las neoplasias sólidas pseudopapilares se caracterizan por mutaciones en CTNNB1, pero no en KRAS, GNAS, RNF43 ni en VHL. Además, las mutaciones en TP53, PIK3CA, PTEN, CDKN2A y SMAD4 son típicas de neoplasia avanzada en el seno de un quiste de estirpe mucinosa, por lo que el análisis molecular podría ayudar tanto en la caracterización de quistes como en la identificación de quistes con presencia de malignidad (34, 35). Actualmente, las guías de práctica clínica recomiendan la determinación de KRAS y GNAS para la identificación de neoplasias de estirpe mucinosa en aquellos casos en los que existan dudas diagnósticas y en los que su adecuada caracterización pueda modificar el tratamiento (5, 18). Para el resto de marcadores son necesarios más estudios aunque es posible que, debido a los resultados preliminares, pueda implementarse en un futuro su uso en casos concretos.

Otra herramienta de la que se dispone actualmente, que no aumenta los efectos adversos y que podría mejorar el diagnóstico es el empleo de contrastes ecográficos (USE-CEH). Estos permiten detectar las estructuras vascularizadas (tabiques y nódulos), mientras que el contenido del quiste (moco, detrito) va a permanecer invisible. Va a ser de utilidad para diferenciar nódulos murales de acúmulos de mucina o de detrito, y para diferenciar los tumores quísticos de los pseudoquistes, puesto que los últimos presentan ausencia de captación en todas las fases salvo aquellos pseudoquistes recientes en los que la cápsula puede realzar (36). La adecuada detección de nódulos murales es subóptima con TAC, RM y USE (37); en diversos estu-

dios se ha demostrado una mejoría en su detección con USE-CEH (38), siendo este punto de especial relevancia puesto que es uno de los criterios para tomar la decisión de tratamiento quirúrgico en pacientes con IPMN o NQM al haberse relacionado con malignidad (10, 29, 38). En un estudio reciente de 70 pacientes en el que se disponía de pieza quirúrgica se evaluó la precisión de la USE y USE-CEH realizadas de forma preoperatoria y encontraron que la USE-CEH es superior frente a la USE en modo B para determinar si la presencia de nódulo mural se asocia con malignidad (respectivamente, sensibilidad: 97 % frente a 97 %; especificidad: 75 % frente a 40 %; precisión: 84 % frente a 64 %) (38). Además, se concluyó que los nódulos murales con una altura ≥ 4 mm detectados con USE-CEH se asociaban con malignidad (*Odds ratio* [OR]: 56); mientras que, en caso de medirse con USE convencional, el tamaño debe ser mayor (≥ 8 mm, OR: 15).

TRATAMIENTO Y SEGUIMIENTO

Mientras que la cirugía está indicada en casos sintomáticos, en aquellos con malignidad o quistes de alto riesgo de malignización la dificultad radica en detectar correctamente dichos pacientes. Los pseudoquistes y las NQS pre-

sentan un potencial de malignidad nulo o muy bajo, por lo que el tratamiento de estas lesiones queda reservado a los casos sintomáticos y aquellos en los que existan dudas diagnósticas (12). Las guías de Fukuoka, europea y AGA recomiendan el tratamiento quirúrgico de las NQM, la neoplasia sólida pseudopapilar, de los MD-IPMN e IPMN mixtos debido al riesgo de malignidad siempre que el paciente sea candidato quirúrgico (6, 10, 23). Sin embargo, existen diferencias en el umbral para la recomendación de tratamiento quirúrgico en el caso de las BD-IPMN (**Tabla 4**) (1). En el caso de las IPMN multifocales se recomienda evaluar y recomendar el tratamiento atendiendo a las características individuales de cada lesión (39).

La indicación de seguimiento va a depender del tipo de quiste e implica la evaluación del tamaño y de la morfología en busca de parámetros precoces que sugieran una posible malignización mediante RM o USE. Los intervalos recomendados de seguimiento son variables según las diferentes guías. La guía de Fukuoka recomienda seguimiento con RM o USE con periodicidad variable en función del tamaño de los quistes, e interrumpir el seguimiento en NQM y NQS resecados en ausencia de neoplasia invasiva. En cambio, la AGA recomienda interrumpir el seguimiento de los quistes pancreáticos tras 5 años en ausencia de cam-

Tabla 4. Indicaciones de tratamiento quirúrgico según las principales guías

Diagnóstico	Guía Fukuoka, 2012	Guía europea, 2013	AGA, 2015
NQM	Cirugía	Cirugía	Cirugía
NQS	No referida en la guía	Sintomáticos y dudas diagnósticas	Solo si después de USE-PAAF presentan hallazgos preocupantes o malignidad en citología
Neoplasia sólida pseudopapilar	No referida en la guía	Cirugía	Cirugía
IPMN de conducto principal	Cirugía	Cirugía	Cirugía*
IPMN mixto	Cirugía	Cirugía	Cirugía*
BD-IPMN	Indicaciones absolutas: Ictericia Nódulo con realce CPP ≥ 10 mm Citología positiva para malignidad Indicaciones relativas: Tamaño ≥ 3 cm en pacientes jóvenes Engrosamiento mural Conducto pancreático principal 5-9 mm o cambio abrupto del calibre con atrofia distal Nódulo sin realce Pancreatitis recurrente	Indicaciones absolutas: Ictericia, diabetes, pancreatitis aguda Nódulo mural CPP > 6 mm Tamaño ≥ 4 cm Indicaciones relativas: Aumento rápido del tamaño Aumento del CA 19,9	Componente sólido y conducto pancreático principal ≥ 5 mm (por RM y USE) Hallazgos preocupantes por USE (confirmación de nódulo mural) o citología positiva para malignidad

*Aunque requiere, además de la dilatación del CPP, confirmación de nódulo sólido o de citología positiva para malignidad.

bios y de aquellas NQM, NQS e IPMN resecaadas sin displasia de alto grado ni carcinoma invasivo (10, 30).

Es importante conocer que la simple presencia de una IPMN implica un mayor riesgo de desarrollar cáncer de páncreas que el de la población general (7, 13, 31), habiéndose descrito un riesgo hasta 19,6 veces superior (2). Según estudios realizados, varios autores han informado que en pacientes intervenidos de IPMN existe riesgo de desarrollar nuevas IPMN, de recurrencia de IPMN y de desarrollar adenocarcinoma pancreático metacrónico en el páncreas remanente (40). Además, este riesgo de adenocarcinoma pancreático se mantiene tras más de 5 años de seguimiento (31), por lo que se recomienda mantener el seguimiento a largo plazo (7). Por ello, múltiples autores han criticado la guía de la AGA y proponen un abordaje alternativo a estas guías incluyendo el descenso del umbral para la realización de USE-PAAF y la determinación de marcadores moleculares (19, 33).

CONCLUSIONES

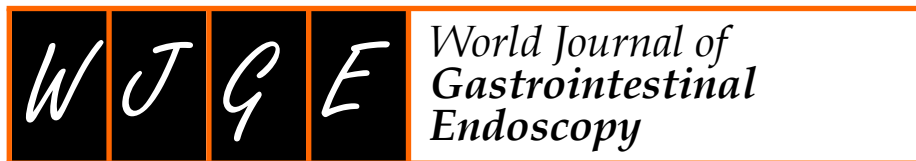
Las NQP son un hallazgo frecuente en pruebas de imagen. La importancia de su caracterización radica en el potencial de malignidad que presentan algunas de ellas. Inicialmente, se debe excluir el diagnóstico de pseudoquiste y diferenciar entre neoplasias de estirpe mucinosa (IPMN y NQM) y serosa (NQS). En muchos casos, el diagnóstico por criterios clínicos y morfológicos no va a ser definitivo, por lo que es necesario realizar USE-PAAF con análisis citológico y bioquímico, planteándose el análisis molecular en centros especializados y como una herramienta que en el futuro próximo pueda contribuir a identificar en casos dudosos los quistes mucinosos y a detectar la presencia de malignidad. Una vez se han diagnosticado MD-IPMN, IPMN mixto o NQM se recomienda realizar tratamiento quirúrgico en aquellos casos en los que sea posible. El manejo de los BD-IPMN se realiza en función de los criterios de alarma propuestos por las guías de práctica clínica. Las NQS no precisan tratamiento salvo en casos sintomáticos o en aquellos en los que existan dudas diagnósticas. Actualmente se recomienda no interrumpir el seguimiento de los IPMN incluso después de haber sido sometidos a resección quirúrgica por el riesgo de desarrollar nuevas IPMN o adenocarcinoma pancreático a largo plazo.

REFERENCIAS

- Chiang AL, Lee LS. Clinical approach to incidental pancreatic cysts. *World J Gastroenterol*. 2016;22(3):1236-45. doi: 10.3748/wjg.v22.i3.1236.
- Munigala S, Gelrud A, Agarwal B. Risk of pancreatic cancer in patients with pancreatic cyst. *Gastrointest Endosc*. 2016;84(1):81-6. doi: 10.1016/j.gie.2015.10.030.
- Kromrey ML, Bülow R, Hübner J, Paperlein C, Lerch MM, Ittermann T, et al. Prospective study on the incidence, prevalence and 5-year pancreatic-related mortality of pancreatic cysts in a population-based study. *Gut*. 2018;67(1):138-45. doi: 10.1136/gutjnl-2016-313127.
- ASGE Standards of Practice Committee, Muthusamy VR, Chandrasekhara V, Acosta RD, Bruining DH, Chathadi KV, et al. The role of endoscopy in the diagnosis and treatment of cystic pancreatic neoplasms. *Gastrointest Endosc*. 2016;84(1):1-9. doi: 10.1016/j.gie.2016.04.014.
- Dumonceau JM, Deprez PH, Jenssen C, Iglesias-Garcia J, Larghi A, Vanbiervliet G, et al. Indications, results, and clinical impact of endoscopic ultrasound (EUS)-guided sampling in gastroenterology: European Society of Gastrointestinal Endoscopy (ESGE) Clinical Guideline - Updated January 2017. *Endoscopy*. 2017;49(7):695-714. doi: 10.1055/s-0043-109021.
- Del Chiaro M, Verbeke C, Salvia R, Klöppel G, Werner J, McKay C, et al. European experts consensus statement on cystic tumours of the pancreas. *Dig Liver Dis*. 2013;45(9):703-11. doi: 10.1016/j.dld.2013.01.010.
- Chernyak V, Flusberg M, Haramati LB, Rozenblit AM, Bellin E. Incidental pancreatic cystic lesions: is there a relationship with the development of pancreatic adenocarcinoma and all-cause mortality? *Radiology*. 2015;274(1):161-9. doi: 10.1148/radiol.14140796.
- Basar O, Brugge WR. Pancreatic cyst guidelines: Which one to live by? *Gastrointest Endosc*. 2017;85(5):1032-1035. doi: 10.1016/j.gie.2016.11.003.
- Lekkerkerker SJ, Besselink MG, Busch OR, Verheij J, Engelbrecht MR, Rauws EA, et al. Comparing 3 guidelines on the management of surgically removed pancreatic cysts with regard to pathological outcome. *Gastrointest Endosc*. 2017;85(5):1025-1031. doi: 10.1016/j.gie.2016.09.027.
- Tanaka M, Fernández-del Castillo C, Adsay V, Chari S, Falconi M, et al. International consensus guidelines 2012 for the management of IPMN and MCN of the pancreas. *Pancreatol*. 2012;12(3):183-97. doi: 10.1016/j.pan.2012.04.004.
- Sugimoto M, Elliott IA, Nguyen AH, Kim S, Muthusamy VR, Watson R, et al. Assessment of a Revised Management Strategy for Patients With Intraductal Papillary Mucinous Neoplasms Involving the Main Pancreatic Duct. *JAMA Surg*. 2017;152(1):e163349. doi: 10.1001/jamasurg.2016.3349.
- Jais B, Rebours V, Malleo G, Salvia R, Fontana M, Maggino L, et al. Serous cystic neoplasm of the pancreas: a multinational study of 2622 patients under the auspices of the International Association of Pancreatology and European Pancreatic Club (European Study Group on Cystic Tumors of the Pancreas). *Gut*. 2016;65(2):305-12. doi: 10.1136/gutjnl-2015-309638.
- Choi SH, Park SH, Kim KW, Lee JY, Lee SS. Progression of Unresected Intraductal Papillary Mucinous Neoplasms

- of the Pancreas to Cancer: A Systematic Review and Meta-analysis. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2017;15(10):1509-1520.e4. doi: 10.1016/j.cgh.2017.03.020.
14. Singh H, McGrath K, Singhi AD. Novel Biomarkers for Pancreatic Cysts. *Dig Dis Sci*. 2017;62(7):1796-1807. doi: 10.1007/s10620-017-4491-4.
15. Overbeek KA, Cahen DL, Canto MI, Bruno MJ. Surveillance for neoplasia in the pancreas. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*. 2016;30(6):971-986. doi: 10.1016/j.bpg.2016.10.013.
16. Xu MM, Sethi A. Imaging of the Pancreas. *Gastroenterol Clin North Am*. 2016;45(1):101-16. doi: 10.1016/j.gtc.2015.10.010.
17. Brugge WR. Diagnosis and management of cystic lesions of the pancreas. *J Gastrointest Oncol*. 2015;6(4):375-88. doi: 10.3978/j.issn.2078-6891.2015.057.
18. European Study Group on Cystic Tumours of the Pancreas. European evidence-based guidelines on pancreatic cystic neoplasms. *Gut*. 2018;67(5):789-804. doi: 10.1136/gutjnl-2018-316027.
19. Singhi AD, Zeh HJ, Brand RE, Nikiforova MN, Chennat JS, Fasanella KE, et al. American Gastroenterological Association guidelines are inaccurate in detecting pancreatic cysts with advanced neoplasia: a clinicopathologic study of 225 patients with supporting molecular data. *Gastrointest Endosc*. 2016;83(6):1107-1117.e2. doi: 10.1016/j.gie.2015.12.009.
20. Goh BK, Thng CH, Tan DM, Low AS, Wong JS, Cheow PC, et al. Evaluation of the Sendai and 2012 International Consensus Guidelines based on cross-sectional imaging findings performed for the initial triage of mucinous cystic lesions of the pancreas: a single institution experience with 114 surgically treated patients. *Am J Surg*. 2014;208(2):202-9. doi: 10.1016/j.amjsurg.2013.09.031.
21. Khashab MA, Kim K, Lennon AM, Shin EJ, Tignor AS, Amateau SK, et al. Should we do EUS/FNA on patients with pancreatic cysts? The incremental diagnostic yield of EUS over CT/MRI for prediction of cystic neoplasms. *Pancreas*. 2013;42(4):717-21. doi: 10.1097/MPA.0b013e3182883a91.
22. van der Waaij LA, van Dullemen HM, Porte RJ. Cyst fluid analysis in the differential diagnosis of pancreatic cystic lesions: a pooled analysis. *Gastrointest Endosc*. 2005;62(3):383-9.
23. Vege SS, Ziring B, Jain R, Moayyedi P; Clinical Guidelines Committee; American Gastroenterology Association. American gastroenterological association institute guideline on the diagnosis and management of asymptomatic neoplastic pancreatic cysts. *Gastroenterology*. 2015;148(4):819-22. doi: 10.1053/j.gastro.2015.01.015.
24. Fernández-del Castillo C, Adsay NV. Intraductal papillary mucinous neoplasms of the pancreas. *Gastroenterology*. 2010;139(3):708-13. doi: 10.1053/j.gastro.2010.07.025.
25. Zikos T, Pham K, Bowen R, Chen AM, Banerjee S, Friedland S, et al. Cyst Fluid Glucose is Rapidly Feasible and Accurate in Diagnosing Mucinous Pancreatic Cysts. *Am J Gastroenterol*. 2015;110(6):909-14. doi: 10.1038/ajg.2015.148.
26. Brugge WR, Lewandrowski K, Lee-Lewandrowski E, Centeno BA, Szydlowski T, Regan S, et al. Diagnosis of pancreatic cystic neoplasms: a report of the cooperative pancreatic cyst study. *Gastroenterology*. 2004;126(5):1330-6.
27. Nakai Y, Isayama H, Itoi T, Yamamoto N, Kogure H, Sasaki T, et al. Role of endoscopic ultrasonography in pancreatic cystic neoplasms: where do we stand and where will we go? *Dig Endosc*. 2014;26(2):135-43. doi: 10.1111/den.12202.
28. Springer S, Wang Y, Dal Molin M, Masica DL, Jiao Y, Kinde I, et al. A combination of molecular markers and clinical features improve the classification of pancreatic cysts. *Gastroenterology*. 2015;149(6):1501-10. doi: 10.1053/j.gastro.2015.07.041.
29. Tanaka M, Fernández-Del Castillo C, Kamisawa T, Jang JY, Levy P, Ohtsuka T, et al. Revisions of international consensus Fukuoka guidelines for the management of IPMN of the pancreas. *Pancreatol*. 2017;17(5):738-753. doi: 10.1016/j.pan.2017.07.007.
30. Lennon AM, Ahuja N, Wolfgang CL. AGA Guidelines for the Management of Pancreatic Cysts. *Gastroenterology*. 2015;149(3):825. doi: 10.1053/j.gastro.2015.05.062.
31. Date K, Ohtsuka T, Nakamura S, Mochidome N, Mori Y, Miyasaka Y, Oda Y, et al. Surveillance of patients with intraductal papillary mucinous neoplasm with and without pancreatotomy with special reference to the incidence of concomitant pancreatic ductal adenocarcinoma. *Surgery*. 2018;163(2):291-299. doi: 10.1016/j.surg.2017.09.040.
32. Basar O, Brugge WR. Which guidelines should be used for branch-duct intraductal papillary mucinous neoplasms? *Gastrointest Endosc*. 2016;84(3):446-9. doi: 10.1016/j.gie.2016.04.044.
33. Ridditid W, DeWitt JM, Schmidt CM, Roch A, Stuart JS, Sherman S, et al. Management of branch-duct intraductal papillary mucinous neoplasms: a large single-center study to assess predictors of malignancy and long-term outcomes. *Gastrointest Endosc*. 2016;84(3):436-45. doi: 10.1016/j.gie.2016.02.008.
34. Jones M, Zheng Z, Wang J, Dudley J, Albanese E, Kadayifci A, et al. Impact of next-generation sequencing on the clinical diagnosis of pancreatic cysts. *Gastrointest Endosc*. 2016;83(1):140-8. doi: 10.1016/j.gie.2015.06.047.
35. Singhi AD, McGrath K, Brand RE, Khalid A, Zeh HJ, Chennat JS, et al. Preoperative next-generation sequencing of pancreatic cyst fluid is highly accurate in cyst classification and detection of advanced neoplasia. *Gut*. 2018;67(12):2131-2141. doi: 10.1136/gutjnl-2016-313586.
36. Alvarez-Sánchez MV, Napoléon B. Contrast-enhanced harmonic endoscopic ultrasound imaging: basic principles, present situation and future perspectives. *World J Gastroenterol*. 2014;20(42):15549-63. doi: 10.3748/wjg.v20.i42.15549.
37. Farrell JJ, Fernández-del Castillo C. Pancreatic cystic neoplasms: management and unanswered questions.

- Gastroenterology. 2013;144(6):1303-15. doi: 10.1053/j.gastro.2013.01.073.
38. Kamata K, Kitano M, Omoto S, Kadosaka K, Miyata T, Yamao K, et al. Contrast-enhanced harmonic endoscopic ultrasonography for differential diagnosis of pancreatic cysts. *Endoscopy*. 2016;48(1):35-41. doi: 10.1055/s-0034-1393564.
39. Farrell JJ. Prevalence, Diagnosis and Management of Pancreatic Cystic Neoplasms: Current Status and Future Directions. *Gut Liver*. 2015;9(5):571-89. doi: 10.5009/gnl15063.
40. Miyasaka Y, Ohtsuka T, Tamura K, Mori Y, Shindo K, Yamada D, et al. Predictive Factors for the Metachronous Development of High-risk Lesions in the Remnant Pancreas After Partial Pancreatectomy for Intraductal Papillary Mucinous Neoplasm. *Ann Surg*. 2016;263(6):1180-7. doi: 10.1097/SLA.0000000000001368.



Submit a Manuscript: <https://www.f6publishing.com>

World J Gastrointest Endosc 2021 February 16; 13(2): 56-71

DOI: 10.4253/wjge.v13.i2.56

ISSN 1948-5190 (online)

ORIGINAL ARTICLE

Observational Study

Molecular analysis of pancreatic cystic neoplasm in routine clinical practice

Raquel Herranz Pérez, Felipe de la Morena López, Pedro L Majano Rodríguez, Francisca Molina Jiménez, Lorena Vega Piris, Cecilio Santander Vaquero

ORCID number: Raquel Herranz Pérez 0000-0002-4709-3932; Felipe de la Morena López 0000-0003-4393-5386; Pedro L Majano Rodríguez 0000-0002-5495-1413; Francisca Molina Jiménez 0000-0003-4912-1025; Lorena Vega Piris 0000-0001-9781-9626; Cecilio Santander Vaquero 0000-0001-5492-2535.

Author contributions: Herranz Pérez R designed the protocol and drafted the manuscript; de la Morena López F helped in the design of the protocol and performed the endoscopic ultrasounds; Majano Rodríguez PL and Molina Jiménez F carried out the molecular analysis and participated in the assessment of the statistical analysis; Vega Piris L performed the statistical analysis; Santander Vaquero C carried out major review changes; all authors reviewed and approved the final manuscript submitted.

Supported by FIB Hospital Universitario de La Princesa, No. G-83727081.

Institutional review board statement: This study was reviewed and approved by the Research Ethics Committee of the Hospital Universitario de La Princesa. The study was registered on Clinical trials: NCT03740360.

Raquel Herranz Pérez, Felipe de la Morena López, Department of Gastroenterology and Hepatology, Hospital Universitario de La Princesa, Instituto de Investigación Sanitaria Princesa, Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Hepáticas y Digestivas, Madrid 28006, Spain

Pedro L Majano Rodríguez, Francisca Molina Jiménez, Molecular Biology Laboratory, Department of Gastroenterology and Hepatology, Hospital Universitario de La Princesa, Instituto de Investigación Sanitaria Princesa, Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Hepáticas y Digestivas, Madrid 28006, Spain

Lorena Vega Piris, Methodological Support Unit, Department of Statistical Analysis, Hospital Universitario de La Princesa, Instituto de Investigación Sanitaria Princesa, CP Madrid, Madrid 28006, Spain

Cecilio Santander Vaquero, Department of Gastroenterology and Hepatology, Hospital Universitario de La Princesa, Instituto de Investigación Sanitaria Princesa, Madrid 28006, Spain

Corresponding author: Raquel Herranz Pérez, MD, Doctor, Department of Gastroenterology and Hepatology, Hospital Universitario de La Princesa, Instituto de Investigación Sanitaria Princesa (IIS-IP), Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Hepáticas y Digestivas, C/Diego de Leon nº62, Madrid 28006, Spain. raquelherranzperez@gmail.com

Abstract

BACKGROUND

Cystic pancreatic lesions consist of a wide variety of lesions that are becoming increasingly diagnosed with the growing use of imaging techniques. Of these, mucinous cysts are especially relevant due to their risk of malignancy. However, morphological findings are often suboptimal for their differentiation. Endoscopic ultrasound fine-needle aspiration (EUS-FNA) with molecular analysis has been suggested to improve the diagnosis of pancreatic cysts.

AIM

To determine the impact of molecular analysis on the detection of mucinous cysts and malignancy.

METHODS

Informed consent statement:

Informed consent was obtained from all patients prior to study inclusion.

Conflict-of-interest statement:

Raquel Herranz Pérez has received research funding from Boston Scientific for investigational purposes only. All other authors have nothing to disclose.

Data sharing statement: Authors grant BPG the license to publish the article and identify itself as the original publisher. No additional data are available.

STROBE statement: The authors have read the STROBE Statement-checklist of items, and the manuscript was prepared and revised according to the STROBE Statement-checklist of items.

Open-Access: This article is an open-access article that was selected by an in-house editor and fully peer-reviewed by external reviewers. It is distributed in accordance with the Creative Commons Attribution NonCommercial (CC BY-NC 4.0) license, which permits others to distribute, remix, adapt, build upon this work non-commercially, and license their derivative works on different terms, provided the original work is properly cited and the use is non-commercial. See: <http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>

Manuscript source: Unsolicited manuscript

Specialty type: Gastroenterology and hepatology

Country/Territory of origin: Spain

Peer-review report's scientific quality classification

Grade A (Excellent): A
Grade B (Very good): 0
Grade C (Good): 0
Grade D (Fair): 0
Grade E (Poor): 0

Received: September 25, 2020

Peer-review started: September 25, 2020

First decision: December 11, 2020

An 18-month prospective observational study of consecutive patients with pancreatic cystic lesions and an indication for EUS-FNA following European clinical practice guidelines was conducted. These cysts included those > 15 mm with unclear diagnosis, and a change in follow-up or with concerning features in which results might change clinical management. EUS-FNA with cytological, biochemical and glucose and molecular analyses with next-generation sequencing were performed in 36 pancreatic cysts. The cysts were classified as mucinous and non-mucinous by the combination of morphological, cytological and biochemical analyses when surgery was not performed. Malignancy was defined as cytology positive for malignancy, high-grade dysplasia or invasive carcinoma on surgical specimen, clinical or morphological progression, metastasis or death related to neoplastic complications during the 6-mo follow-up period. Next-generation sequencing results were compared for cyst type and malignancy.

RESULTS

Of the 36 lesions included, 28 (82.4%) were classified as mucinous and 6 (17.6%) as non-mucinous. Furthermore, 5 (13.9%) lesions were classified as malignant. The amount of deoxyribonucleic acid obtained was sufficient for molecular analysis in 25 (69.4%) pancreatic cysts. The amount of intracystic deoxyribonucleic acid was not statistically related to the cyst fluid volume obtained from the lesions. Analysis of *KRAS* and/or *GNAS* showed 83.33% [95% confidence interval (CI): 63.34-100] sensitivity, 60% (95%CI: 7.06-100) specificity, 88.24% (95%CI: 69.98-100) positive predictive value and 50% (95%CI: 1.66-98.34) negative predictive value ($P = 0.086$) for the diagnosis of mucinous cystic lesions. Mutations in *KRAS* and *GNAS* were found in 2/5 (40%) of the lesions classified as non-mucinous, thus recategorizing those lesions as mucinous neoplasms, which would have led to a modification of the follow-up plan in 8% of the cysts in which molecular analysis was successfully performed. All 4 (100%) malignant cysts in which molecular analysis could be performed had mutations in *KRAS* and/or *GNAS*, although they were not related to malignancy ($P > 0.05$). None of the other mutations analyzed could detect mucinous or malignant cysts with statistical significance ($P > 0.05$).

CONCLUSION

Molecular analysis can improve the classification of pancreatic cysts as mucinous or non-mucinous. Mutations were not able to detect malignant lesions.

Key Words: Pancreatic cysts; Molecular analysis; Next-generation sequencing; Mucinous cyst; Pancreatic cyst fluid; Pancreatic cancer

©The Author(s) 2021. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Core Tip: Pancreatic cystic lesions are frequently found on imaging studies performed for other reasons, but differentiation between the different types and the detection of malignancy is often suboptimal with morphological features. Molecular analysis has been proposed to optimize cyst classification and the detection of malignancy. However, there is little evidence of its feasibility and usefulness in daily practice. The aim of this study was to evaluate the diagnostic yield of molecular analysis for the detection of mucinous and malignant cysts in routine clinical practice.

Citation: Herranz Pérez R, de la Morena López F, Majano Rodríguez PL, Molina Jiménez F, Vega Piris L, Santander Vaquero C. Molecular analysis of pancreatic cystic neoplasm in routine clinical practice. *World J Gastrointest Endosc* 2021; 13(2): 56-71

URL: <https://www.wjgnet.com/1948-5190/full/v13/i2/56.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.4253/wjge.v13.i2.56>

INTRODUCTION

Pancreatic cysts are increasingly diagnosed as a consequence of both incidental



Herranz Pérez R *et al.* Molecular analysis of pancreatic cystic neoplasm

Revised: December 22, 2020
Accepted: January 8, 2021
Article in press: January 8, 2021
Published online: February 16, 2021

P-Reviewer: Liu C
S-Editor: Zhang L
L-Editor: Webster JR
P-Editor: Wang LL



findings on computed tomography (CT) and magnetic resonance imaging (MRI)^[1], and longer life expectancy of the population^[2,3]. Their diagnosis can generate a high degree of concern for both patients and physicians leading sometimes to the performance of multiple examinations, associated with an increase in diagnostic costs, and even unnecessary resections.

There are many different types of pancreatic cysts, including both neoplastic and non-neoplastic lesions. Their accurate diagnosis is important as some of them, such as mucinous cystic lesions or solid pseudopapillary tumors, are associated with a risk of malignancy, whereas others, such as serous cystic neoplasms and pseudocysts, are considered benign cysts. Mucinous cysts have a higher risk of malignant transformation. They can be divided into mucinous cystic neoplasm (MCN) and intraductal papillary mucinous neoplasm (IPMN), which can be branch-duct IPMN, mixed-type IPMN or main-duct IPMN (MD-IPMN). However, not all of them have the same risk of malignancy. According to recent publications, MCN have a 10%-17% risk of malignancy^[4,5], MD-IPMN 38%-68%^[3,6,7], branch-duct IPMN 12%-47%^[2,4], and solid pseudopapillary neoplasms 8%-20%^[4]. Furthermore, it is also important to note that the presence of an IPMN is associated with a higher risk of developing concomitant pancreatic adenocarcinoma^[8,9].

Pancreatic neoplasia is one of the most frequent causes of cancer-related death, with a 5-year survival lower than 10%^[9]. Only 20%-25% of pancreatic neoplasms are candidates for surgical treatment at diagnosis, and 80% of these will recur despite surgical intervention. Precursor lesions of pancreatic adenocarcinoma are pancreatic intraepithelial neoplasia and pancreatic cystic neoplasm (PCN)^[10], and their identification is crucial for early diagnosis and treatment, thus increasing survival of these patients.

Hence, the main diagnostic challenge for these lesions is the early detection of preneoplastic and malignant lesions, thereby avoiding unnecessary surgeries and establishing an adequate follow-up due to the risk of degeneration and the development of pancreatic adenocarcinoma. Therefore, an accurate diagnosis has prognostic, therapeutic and follow-up implications. Most PCN are incidentally detected in radiological tests performed for other reasons. However, in many cases it is difficult to differentiate between the different types of cysts and their risk of malignancy only by morphological characteristics, with an accuracy for adequate identification of the type of cyst of 40%-95% for MRI and 40%-81% for CT^[11].

Endoscopic ultrasound (EUS) is currently the diagnostic technique of choice for PCN as it allows not only assessment of morphological criteria, but also the performance of fine needle aspiration (FNA) and fluid analysis^[12]. Usually, cyst fluid analysis includes cytological and biochemical [carcinoembryonic antigen (CEA), and recently glucose] evaluation^[13-16]. However, accuracy for the diagnosis of mucinous cysts and malignancy detection remains suboptimal^[14,17]. There are different clinical practice guidelines for the diagnosis and treatment of PCN. The most commonly used are the International Association of Pancreatology guideline (IAP), the European guideline and the American Gastroenterological Association (AGA) guideline^[11,18]. However, the IAP and the European guidelines lead to unnecessary surgeries and the AGA to a decrease in sensitivity for the detection of malignancy^[9]. Therefore, multiple authors have evaluated the possibility of incorporating molecular analysis of cyst fluid for the diagnosis of pancreatic cysts, which has shown promising results^[14,19,20].

The aim of the current study was to determine the impact of molecular analysis on the detection of mucinous cysts and malignancy in routine clinical practice.

MATERIALS AND METHODS

This prospective trial was conducted in patients from a single center (Hospital Universitario de La Princesa, Madrid, Spain) over an 18-mo period.

Case selection

Consecutive patients over 18 years old referred to the Endoscopy Unit of Hospital Universitario de La Princesa with PCN and an indication for EUS-FNA following current clinical practice guidelines were recruited for the study. Inclusion criteria were: Lesions ≥ 15 mm in size, the need to confirm the diagnosis prior to surgical treatment, presence of worrisome features on imaging (wall thickening, main pancreatic duct > 5 mm, non-enhanced mural nodule, abrupt change in the size of the main pancreatic duct), changes on imaging during follow-up or an increase in serum CA 19.9. Patients were excluded from enrolment according to the following criteria:

Pregnancy, cysts with extra-pancreatic location or outside the scope of EUS, previous study with EUS-FNA, active treatment with anticoagulants or antiplatelets, thrombopenia (< 50.000 platelets/ μ L) or coagulopathy (INR < 1.5), or refusal to participate in the study. All participants enrolled in the study provided informed consent prior to the procedure. The study was approved by the Research Ethics Committee and prospectively registered on Clinical Trials (NCT03740360).

Imaging features prior to cyst fluid analysis

Radiological imaging impression was obtained by reviewing the radiological reports, and cysts were classified as malignant or without malignant features. A single endoscopist and anesthetist, both experts in their fields, performed the respective procedures in all study participants. All EUS were performed with a linear endoscopic ultrasound device (GF-UCT 180; Olympus Co., Japan). EUS features were described and recorded during the procedure, and lesions were classified as with or without worrisome features, and as malignant, mucinous or serous. After examination of the lesions contrast-enhanced EUS with Sonovue® (sulfur hexafluoride-filled microbubbles) was performed and the examination was recorded for later detailed re-evaluation. We defined three contrast patterns based on the cyst wall and septal enhancement: Hyper-enhanced, hypo-/iso-enhanced and mixed pattern.

Cyst fluid analysis

After antibiotic prophylaxis with 400 mg iv ciprofloxacin or 2 g ceftriaxone in the case of allergy to quinolones, cyst fluid was obtained by EUS-FNA with a 22 G needle (Expert Slimline, Boston®), and sent for cytologic, biochemical and molecular analysis. Both immediate and delayed (after 72 h) complications were registered.

Cytological evaluation: Smears were prepared on glass slides, 2/3 air-dried and 1/3 fixed in ethanol. Mucin staining with Alcian blue was performed on ethanol-fixed slides, and mucin detection was performed with the automatic Dakocytomation system (AR160). Lesions were categorized under Papanicolaou classification and as mucin-staining positive or negative.

Biochemical analysis: At least 1 mL of cyst fluid was sent for analysis. We determined CEA levels in our laboratory with the Architect system by chemiluminescent immunoassay. Following prior studies, the CEA cut-off point was established as 192 ng/mL to differentiate mucinous (< 192 ng/mL) from non-mucinous. From the 16th lesion included in the study, intracystic glucose determination was added to the protocol, as recent evidence indicates that glucose levels < 50 mg/dL are suggestive of mucinous cysts^[15,16]. Glucose determination was performed in our Hospital laboratory (using calibration for the determination of glucose in biological fluids).

Molecular analysis: After cytological and biochemical analysis, the excess fluid was frozen and stored at -80°C until all patients were recruited. The range of volumes available for molecular analysis was 0.3-5 mL. The collection was registered in the Spanish National Register of Biobanks of the Carlos III Health Institute. The genomic deoxyribonucleic acid (DNA) present in the pancreatic cyst fluid was manually purified using the NZY Blood gDNA Isolation kit (NZYtech) following the manufacturer's recommendations. The extracted DNA was fluorimetrically quantified using the Quantus (Promega) system. The integrity of the DNA obtained was determined in the Agilent 2100 Bioanalyzer (Agilent) using the Agilent High Sensitivity DNA (Agilent) kit. Due to the low concentrations obtained in some samples, DNA was concentrated up to a concentration of 30 ng/ μ L, using magnetic beads (AMPure XP beads, Beckman Coulter). Although cyst fluid was initially obtained from the 36 pancreatic cysts, only 25 of them yielded the amount of DNA needed to perform sequencing (100 ng of DNA at a concentration of 30 ng/ μ L). The targeted Next-Generation Sequencing (tNGS) was performed in the MiSeqTM platform (Illumina) using a panel designed specifically for this project (Roche).

Gene panel bioinformatic design

All exons of the following genes were included and sequenced by tNGS: *AKT1*, *ALK*, *APC*, *BRAF*, *CDKN2A*, *CDH1*, *CTNNB1*, *DDR2*, *EGFR*, *ERBB2*, *ESR1*, *FBXW7*, *FGFR1*, *FGFR2*, *FGFR3*, *FOXL2*, *GNAI1*, *GNAQ*, *GNAS*, *HRAS*, *IDH1*, *IDH2*, *KIT*, *KRAS*, *MAP2K1*, *MET*, *NOTCH1*, *NRAS*, *PDGFRA*, *PIK3CA*, *PIK3R1*, *PTEN*, *RET*, *RNF43*, *ROS1*, *SMAD4*, *TGFBR2*, *TP53*, *VHL*. Therefore, coverage was complete.

Herranz Pérez R *et al.* Molecular analysis of pancreatic cystic neoplasm

tNGS data analysis

Coverage analysis showed that nearly 100% of the regions were covered at a depth of 100 × or more in all the samples, reaching 400 × in a very high percentage of them. The search for variants was carried out with the VarScan software (<http://varscan.sourceforge.net/>). Among the variants identified, approximately 400, those present in more than 75% of the samples which did not appear as mutations noted in the databases were excluded as they were not likely to participate in the development of the disease. Variants with very low frequency (< 1 reading) were eliminated from the study since these could be due to errors in sequencing. For the final analysis, the variants detected with a frequency between 1%-33% were included. A total of 78 variants were detected in the 25 samples analyzed (mean of 3 mutations per sample). Comparisons between samples and identification of the pathogenicity of variants were carried out using the PredictSNP2tool (<https://Loschmidt.chemi.muni.cz/predictsnp2/referencia>). In addition, the information from the predictive tools was combined with the results of the search in the ClinVar database, which contains the interpretation of the relationship between variants and their significance for human health.

Diagnostic criteria for malignant/benign cysts

We defined as malignant those PCN that met any of the following criteria^[21]: EUS-FNA cytology suspicious or compatible with malignancy; High-grade dysplasia or invasive carcinoma in the histology analysis of a surgical specimen; Progression of the PCN and/or metastatic disease in the imaging tests during follow-up; Death related to neoplastic complications up to 6 mo after diagnosis; Clinical follow-up consistent with underlying tumor disease for 6 mo.

In the absence of a definitive histopathological diagnosis, we defined a "pseudo-gold standard" to classify lesions into mucinous and non-mucinous (Figure 1), based on the previous evidence and the recommendations of clinical practice guidelines^[5,10,11,22].

Variables

The following data were recorded for each patient: Age, sex, American Society of Anesthesiologist classification, treatment with antiplatelets or anticoagulants, history of pancreatitis, neoplasia, smoking or familial pancreatic cancer, presence of symptoms, radiological diagnosis, date of EUS examination, EUS diagnosis, complications, size and location of the lesions, biochemical, cytological and molecular analysis of cyst fluid, histopathological diagnosis in the case of surgery, follow-up and diagnosis of malignancy following the above-mentioned criteria.

Statistical analysis

Continuous variables are expressed as average ± SD and were compared between groups using the Student's *t*-test or *U* Mann-Whitney test. Categorical variables are expressed as percentage, and comparisons were made with the χ^2 or Fisher's exact test. The level of agreement reached was determined with Cohen's kappa. Sensitivity, specificity, positive predictive value (PPV) and negative predictive value (NPV) of diagnostic variables were determined according to the pseudo-gold standard established in the study. *P* values ≤ 0.05 were considered significant. All the statistical analyses were performed with the IBM SPSS 23.0 or Stata v13.0 program.

RESULTS

Patient baseline characteristics

Eighty-seven patients with a total of 95 PCN were included between June 2017 and December 2018. After applying the exclusion criteria, 52 patients with 59 PCN were excluded: 47 lesions < 15 mm in size, 6 patients with 6 PCN did not agree to participate, 4 due to lack of modification of the plan following the results of EUS-FNA, and 2 lesions due to lack of technical safety to reach the lesion. In one of these cases access was limited by interposition of gastric neoplasia. Thus, 35 patients with 36 PCN were initially enrolled. Demographic and clinical characteristics are detailed in Table 1.

Lesion characteristics

Table 2 summarizes the lesion characteristics on radiological (CT and MRI) and EUS examinations. None of the 8 mural nodules detected on EUS were described in the

Table 1 Demographic and clinical data of the study population, *n* (%)

Patients	<i>n</i> = 35
Age (yr)	66.7 ± 14.5
Male gender	17 (48.6)
ASA I-II	25 (71.4)
AAS	5 (14.3)
Smoking	12 (34.3)
History of acute pancreatitis	3 (8.6)
History of extrapancreatic neoplasia	10 (28.6)
Family history of pancreatic cancer	3 (8.6)
Symptoms	10 (28.6)

Quantitative variables are expressed as mean and standard deviation. Qualitative variables are expressed as absolute values; percentages are indicated in parentheses. ASA: American Society of Anesthesiologist classification; AAS: Acetylsalicylic acid.

radiological imaging techniques. Table 3 summarizes the results of cyst fluid analysis. CEA levels were not determined in 7/36 (19.4%) PCN due to technical problems associated with the high viscosity of the fluid (*n* = 1; 14.3%) or insufficient sample (*n* = 6; 85.7%). In the case of glucose levels, they could not be determined in 6/22 (27.3%) because of high viscosity (*n* = 1; 16.7%) or insufficient sample (*n* = 5; 83.3%).

Lesion classification

Classification of 2 (5.6%) of the PCN into mucinous or non-mucinous lesions was not possible because the mucin stain was negative and no additional CEA or glucose was available. The remaining 34 lesions were classified following the algorithm described in Figure 1. Twenty-eight (82.4%) were classified as mucinous because they met at least one of the criteria and 6 (17.6%) as non-mucinous.

Molecular analysis for the identification of mucinous cystic lesions and malignant cysts

The mean volume of liquid sent for molecular analysis was 2.1 ± 2.3 mL. Although cyst fluid was initially collected from the 36 PCN, only 25 (69.4%) had the amount of DNA needed to perform sequencing (100 ng of DNA at a concentration of 30 ng/μL). The cyst fluid volume obtained for molecular analysis in the cases with enough DNA was lower (1.8 ± 1.8 mL) compared to those with insufficient DNA (2.7 ± 3.1 mL). No statistically significant relationship was found between cyst fluid volume and the possibility of performing molecular analysis.

The results of molecular analysis are shown in Table 4. Overall, mutations in *KRAS* were found in 16 (64%) cysts, *GNAS* in 13 (52%), *PIK3R1* in 1 (4%), *IDH1* in 1 (4%), *PDGFRA* in 3 (12%), *FGFR3* in 2 (8%), *RET* in 1 (4%), *ERBB2* in 1 (4%), *BRAF* in 1 (4%), *TGFBR2* in 1 (4%), *FBXW7* in 1 (4%) and *MAP2K1* in 1 (4%) cyst. No mutations were found in the other genes analyzed.

Molecular analysis was possible in 18/28 (64.3%) of the cysts classified as mucinous and in 5/6 (83.3%) of the lesions classified as non-mucinous. In addition, sufficient DNA was obtained in two lesions that could not be classified as mucinous or non-mucinous using the cytological and biochemical criteria described in the previous section.

Mucinous cystic neoplasms: None of the mutations were associated with mucinous cysts (*P* > 0.05). Mutations in *KRAS* and *GNAS* were found in 13/18 (72.2%) and 10/18 (55.6%) of the cysts classified as mucinous, respectively. *KRAS* had an 81.2% sensitivity (95%CI: 59-100) and 71.4% specificity (95%CI: 30.9-100) (*P* = 0.297), while *GNAS* had a 76.9% sensitivity (95%CI: 50.1-100) and 80% (95%CI: 50.2-100) specificity (*P* = 0.640) for mucinous cyst diagnosis. When combining *KRAS* and *GNAS* mutations, 15/18 (83.3%) of the mucinous cysts presented mutations in *KRAS* and/or *GNAS*, offering an 83.3% sensitivity (95%CI: 63.3-100), 60% specificity (95%CI: 7.06-100), 88.24% PPV (95%CI: 69.98-100) and 50% NPV (95%CI: 1.66-98.34) (*P* = 0.086) for the detection of mucinous cysts.

Herranz Pérez R *et al.* Molecular analysis of pancreatic cystic neoplasm

Table 2 Morphological characteristics

Radiological imaging tests	n (%)
Malignant	7 (19.4)
Non-malignant	29 (80.6)
Worrisome features on EUS	18 (50)
EUS diagnosis	
Malignant	4 (11.1)
BD-IPMN	9 (25)
MD-IPMN	14 (38.9)
MCN	5 (13.9)
SCN	4 (11.1)
Location	
Head	21 (58.3)
Body	15 (41.7)
Tail	0
Multifocal	8 (22.9)
Size (mm)	27 ± 15.5
Size MPD > 3 mm	11 (30.6)
Mural nodule	8 (22.2)
Contrast enhancement pattern	
Hypo/iso-enhanced walls	18 (54.5)
Hyperenhanced walls	12 (36.4)
Mixed enhancement pattern	3 (9.1)

Quantitative variables are expressed as mean ± standard deviation. Quantitative variables are expressed as absolute values, and their proportions are in bracketed text. EUS: Endoscopic ultrasound; BD-IPMN: Branch duct intraductal papillary mucinous neoplasm; MD-IPMN: Main duct intraductal papillary mucinous neoplasm; MCN: Mucinous cystic neoplasm; SCN: Serous cystic neoplasm; MPD: Main pancreatic duct.

Non-mucinous cystic neoplasms: In a similar manner to mucinous cysts, none of the detected mutations were statistically associated with non-mucinous cyst diagnosis. Mutations in *KRAS* and *GNAS* were found in the same 2/5 (40%) PCN; therefore, the combination of both mutations did not provide different results.

Undetermined cystic lesions: Molecular analysis was also performed in 2 (5.6%) PCN that could not be classified as mucinous or non-mucinous. One of them had mutations in *KRAS* and *GNAS*, while no mutations were found in the other cyst.

Malignant cystic neoplasms: Molecular analysis was carried out in 4/5 (80%) of the malignant lesions and in 21/31 (67.7%) of the non-malignant lesions. Mutations in *KRAS* and/or *GNAS* were found in the 4 (100%) lesions classified as malignant and in 14/21 (66.7%) of the non-malignant lesions. No mutations in *PIK3CA* were found in any of the malignant cysts analyzed. None of the mutations found were related to malignancy ($P > 0.05$).

DISCUSSION

In this study, we evaluated the diagnostic yield of molecular analysis of cyst fluid obtained by EUS-FNA for mucinous cyst diagnosis and the detection of malignancy.

Previous studies have shown that mutations present in the histopathological analysis of pancreatic tissue obtained from surgical specimens are also present in pancreatic cyst fluid, although the amount of DNA obtained from fluid analysis is

Table 3 Cyst fluid analysis

Biochemical	n (%)
CEA (<i>n</i> = 29)	
< 192 ng/mL	14 (48.3)
≥ 192 ng/mL	15 (51.7)
Glucose (<i>n</i> = 16)	
< 50 mg/dL	10 (62.5)
≥ 50 mg/dL	6 (37.5)
Cytological	
Papanicolaou classification (<i>n</i> = 36)	
II	13 (36.1)
IV	22 (61.1)
VI	1 (2.8)
Mucin staining (<i>n</i> = 36)	
Positive	22 (61.1)
Negative	14 (38.9)
Molecular	
Possible	25 (69.4)
Not possible	11 (30.6)

Quantitative variables are expressed as absolute values, and their proportions are in parentheses. CEA: Carcinoembryonic antigen.

lower and sometimes insufficient for molecular analysis^[23,24]. In our series, we obtained enough material to perform the molecular analysis (100 ng of DNA at a concentration of 30 ng/μL) in 69.4% of included PCN. An insufficient amount of intracystic DNA was not associated with a lower volume of fluid obtained. These results are similar to those reported in previous studies, which described that the volume required to perform molecular analysis ranges between 0.2-0.5 mL, although in some samples the amount of DNA is insufficient to perform the analysis^[23,25,26]. Therefore, we assume that the amount of intracystic DNA is low, and in some cases it may be insufficient to perform molecular analysis, providing negative results regardless of cyst fluid volume.

tNGS detected the following mutations: *KRAS* in 16 (64%) cysts, *GNAS* in 13 (52%), *PIK3R1* in 1 (4%), *IDH1* in 1 (4%), *PDGFRA* in 3 (12%), *FGFR3* in 2 (8%), *RET* in 1 (4%), *ERBB2* in 1 (4%), *BRAF* in 1 (4%), *TGFB2* in 1 (4%), *FBXW7* in 1 (4%) and *MAP2K1* in 1 (4%) cyst. No mutations were found in the rest of the evaluated genes. These results are in accordance with those of Jones *et al*^[19], who evaluated 92 pancreatic cysts by tNGS for the presence of mutations in 39 genes; they found no mutations in 43% of the included cysts and the most frequently detected mutations, as in our series, were *KRAS* and *GNAS*. In order of decreasing frequency, mutations were found in the following genes: *KRAS* (47%), *GNAS* (24%), *CDKN2A* (6%), *VHL* (2%), *SMAD4* (1%) and *TP53* (1%). We found mutations in *KRAS* in 72.2% and *GNAS* in 55.6% of mucinous lesions. When combining these results, 83.3% of mucinous cysts harbored a mutation in one or both genes. However, neither *KRAS* nor *GNAS* or other genes were related to mucinous cyst diagnosis ($P > 0.05$). Regarding the lesions classified as non-mucinous, mutations were found in *KRAS* in 40% of these lesions and in *GNAS* in the same 40%. Similar to mucinous cysts, none of the mutations were related to non-mucinous cyst diagnosis ($P > 0.05$). We did not find any mutations in *VHL*. However, although its presence has been related to serous cystic neoplasms with high specificity, the frequency of this mutation is low. Jones *et al*^[19] analyzed fluid from 92 PCN using NSG and found *VHL* mutations in 2% of them. Springer *et al*^[20] found mutations in 42% of histopathologically confirmed serous cystadenomas, although they carried out their determination in cyst fluid obtained from surgical specimens and therefore, the percentage could be higher.

Some authors have raised the possibility of incorporating molecular analysis of PCN due to the high specificity of *KRAS* and *GNAS* for mucinous cysts diagnosis found in

Herranz Pérez R *et al.* Molecular analysis of pancreatic cystic neoplasm

Table 4 Molecular analysis

	Non-mucinous					Mucinous																		
	PCN5	PCN15	PCN18	PCN20	PCN33	PCN0	PCN1	PCN2	PCN3	PCN4	PCN7	PCN11	PCN13	PCN14	PCN16	PCN17	PCN19	PCN21	PCN24	PCN25	PCN29	PCN30	PCN33	
KRAS	M	M	N	N	M	M	N	N	N	N	M	N	N	N	N	M	N	N	M	M	N	N	N	
GNAS	M	M	N	N	M	N	N	N	N	N	N	N	M	N	N	M	N	N	M	M	M	M	M	
VHL	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	
P53	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	
PIK3R1	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	N	M	M	M	M	
EGFR	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	
ALK	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	
NOTCH1	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	
GNAI1	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	
CDKN2A	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	
APC	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	
FGFR2	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	
IDH1	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	N	M	M	M	M	M	M	
PIK3CA	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	
KIT	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	
MET	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	
FGFR1	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	
ROS1	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	
GNAQ	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	
PDGFRA	M	M	M	M	M	M	M	M	N	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	N	M	N	
FGFR3	N	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	N	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	
RNF43	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	
RET	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	N	
ERBB2	M	M	M	M	M	M	M	N	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	
DDR2	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	

Herranz Pérez R *et al.* Molecular analysis of pancreatic cystic neoplasm

BRAF	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	N	M
ESR1	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M
FGFR2	M	M	M	M	M	N	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M
FBXW7	M	M	N	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M
FOXJ2	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M
MAP2K1	M	M	M	M	M	M	N	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M
AKT1	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M
CTNNB1	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M
SMAD4	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M
PTEN	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M
NRAS	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M
IDH2	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M
HRAS	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M
CDH1	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M

PCN: Pancreatic cystic neoplasm. M: Mutated; N: Not-mutated.

previous studies with histopathological correlation, and the small volume required for their determination^[1,14,27,28]. Nikiforova *et al*^[24] performed molecular analysis of cyst fluid obtained by EUS-FNA and found that the presence of a *KRAS* mutation offered a sensitivity of 54% and specificity of 100% for mucinous cyst diagnosis^[24]. Similarly, Amato *et al*^[24] described that *KRAS* and/or *GNAS* were mutated in 92% of *IPMN*, *GNAS* in 79%, *KRAS* in 50% and both in 37.5%^[10]; Singhi *et al*^[23] found mutations in *GNAS* in 39%, *KRAS* in 68% and both in 83% of *IPMN*, although only 6% of the *MCN* had mutations in *KRAS* and/or *GNAS*^[11]. Al-Haddad *et al*^[23] found that the presence of a mutation in *KRAS* and/or ≥ 2 loss of heterozygosity in cyst fluid obtained by EUS-FNA demonstrated 50% sensitivity and 80% specificity for the diagnosis of mucinous cysts. In their study, 58% of the mucinous cysts with histopathological diagnosis did not present *KRAS* mutations. However, molecular analysis allowed adequate classification of 24% of the mucinous cysts that could not be classified by CEA and cytological analysis. In this study, *KRAS* offered 81.2% sensitivity and 71.4% specificity, *GNAS* 76.9% sensitivity and 80% specificity, and the combination of *KRAS* with *GNAS* 83.3% sensitivity and 60% specificity for the diagnosis of mucinous cysts. Our sensitivity is close to or higher than that of the studies described above, even in those where the fluid was obtained by aspiration of the surgical specimen. On the

Herranz Pérez R *et al.* Molecular analysis of pancreatic cystic neoplasm

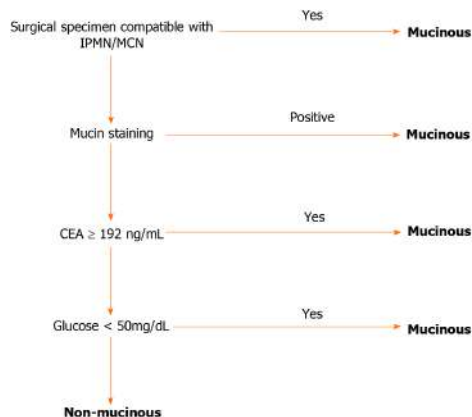


Figure 1 Diagnostic algorithm for mucinous and non-mucinous cysts. Pseudogold standard was considered positive (mucinous) if: Mucinous histology and/or positive mucin staining and/or biochemical ≥ 192 ng/dL and/or glucose < 50 mg/dL, whereas it was considered negative (non-mucinous) if: Non-mucinous histology, negative mucin staining, biochemical < 192 ng/dL and glucose > 50 mg/dL. IPMN: Intraductal papillary mucinous neoplasm; MCN: Mucinous cystic neoplasm; CEA: Carcinoembryonic antigen.

other hand, our specificity was lower due to the absence of histopathological correlation in some lesions, which could have modified the final diagnosis, and the smaller population of our series.

Taking into consideration the high specificity of *KRAS* and *GNAS* in previous studies for the diagnosis of mucinous cysts^[26], the 2 (40%) lesions without histopathological diagnosis classified as non-mucinous would have been recategorized as mucinous after molecular analysis due to the presence of mutations in both *KRAS* and *GNAS*. This would have led to a modification of the follow-up plan in 8% of the cysts in which molecular analysis was successfully performed. Additionally, of the 2 indeterminate cysts in our study, one showed mutation in both *KRAS* and *GNAS* so it could have been classified as mucinous. Therefore, we agree that performing molecular analysis, at least in selected cases with uncertain diagnosis, could improve diagnosis by adequately categorizing PCN as mucinous. This is important as mucinous cysts are premalignant lesions and have a higher risk of concomitant pancreatic adenocarcinoma, thus implying long-term follow-up. We agree with the statement made by other authors about the usefulness of associating the determinations of CEA (more sensitive) and *KRAS*/*GNAS* (more specific)^[24,31]. However, further prospective studies with histopathological correlation are needed.

Another area of interest in molecular analysis is the detection of malignancy given the low diagnostic accuracy of other diagnostic methods for early detection of malignant PCN and the morbimortality associated with pancreatic surgery. In our case we were able to evaluate the presence of mutations in 80% of malignant lesions. We found mutations in *KRAS* and/or *GNAS* in all (100%) malignant lesions, but none of these lesions showed mutations in *PIK3CA*. Additionally, we found mutations in *IDH1* ($n = 1$) and *TGFB2* ($n = 1$). In our series no mutations were statistically related to malignancy ($P > 0.05$). Similarly, in previous studies *KRAS* and *GNAS* have not been related to malignancy and have been described as mutations that occur in the early stages of pancreatic carcinogenesis^[10,19,25]. In contrast, other mutations such as *TP53*, *PIK3CA*, *PTEN* or loss of *SMAD4* have been associated with malignancy^[10,19,23,34]. Our results, similar to those obtained in the study by Singh *et al.*^[23], show that *KRAS* and *GNAS* are mutations that occur in the early stages of carcinogenesis and are therefore present in 100% of malignant mucinous cystic neoplasms. However, they found that 50% of the IPMNs with high grade dysplasia and 100% of the IPMNs with adenocarcinoma had, in addition to the *KRAS* and/or *GNAS* mutations, mutations in *TP53*, *PIK3CA* and/or *PTEN*. In our study we found no mutations in *TP53*, *PIK3CA* or *PTEN*. These differences could be justified by the low incidence of malignancy in our sample, differences in the time from extraction to the performance of the molecular analysis and differences in the process of molecular analysis.

There are several clinical practice guidelines focused on diagnosis, treatment and

follow-up of PCN, with differences in the indication of EUS-FNA, surgery and follow-up^[2,3,11,15,22,35-37]. These differences show the lack of agreement regarding the role and indication of this technique, probably due to the challenge of early detection of malignancy combined with avoiding unnecessary surgeries. They also reflect disagreement in establishing cost-effective follow-up strategies. The AGA guideline has been widely criticized for its low diagnostic accuracy for detection of malignant cystic lesions, and for its recommendation to discontinue long-term follow-up in the absence of significant findings or changes^[12,38,39]. In addition, the European guideline and the IAP guideline have also been criticized mainly for the high number of unnecessary surgeries related to their recommendations^[5,40]. Therefore, several authors have proposed alternative algorithms based mainly on lowering the threshold for the indication of EUS-FNA and on performing molecular analysis^[12,41,42].

According to the European guideline^[11], we believe it is advisable to continue follow-up in mucinous lesions, while it could be discontinued in serous cysts. However, differentiation between serous and mucinous PCN is difficult, so the European guideline advises performing EUS-FNA with cytological analysis, CEA and molecular analysis (NGS) with determination of *KRAS* and *GNAS* when the diagnosis is unclear^[43]. In contrast, the IAP guideline considers that molecular analysis is experimental and should only be considered in centers with experience in this technique^[4]. We have proven that the performance of molecular analysis is a complex procedure, with high cost and requires an experienced team; thus, we consider, in line with IAP guidelines, that the technique should be standardized before recommending its widespread use.

The main strengths of our study are its prospective nature with a cohort of patients with different types of PCN (82.4% mucinous and 17.6% non-mucinous cysts) and malignancy (13.8%), which shows the standard clinical practice in the study and therapeutic decision on PCN, and therefore our experience is applicable to clinical practice in any other center with access to pancreatic study techniques. Additionally, we performed molecular analysis providing additional information on PCN diagnosis.

However, our study has several limitations. First of all, it is a unicentric study based on the experience of a single endoscopist. Second, it should be noted that the diagnosis using morphological, cytological and biochemical criteria is suboptimal and we only have anatomopathological diagnosis in 5 (13.9%) of the lesions. In fact, as we have already discussed, in 2 lesions classified as non-mucinous, initial diagnosis would have been modified after performing molecular analysis. We consider that our system of classifying the PCN is a good option in clinical practice, where the diagnosis is made with the available data in the absence of a surgical specimen. Third, the absence of malignancy was defined as the absence of progression in imaging tests or clinical deterioration after a follow-up of no less than 6 mo, being the median follow-up in our study of 472 (IQR: 271-619) d. However, the follow-up period could be considered short and it is uncertain if patients could have developed malignancy over a longer follow-up period. Fourth, the small sample size of the study, which was due to the short temporal frame of the study and inclusion criteria, resulted in the absence of statistical significance. Only lesions ≥ 15 mm were included following the recommendations of the European guideline^[11], excluding those < 15 mm, even though the presence of malignancy was described in up to 39% of the symptomatic cysts < 2 cm^[44]. Finally, we emphasize that, although we consider that molecular analysis is highly specific for the diagnosis of mucinous cysts, the high cost of this technique precludes its universal implementation.

CONCLUSION

In conclusion, molecular cyst fluid analysis obtained by EUS-FNA helped in our study by recategorizing 40% of serous lesions as mucinous cysts. However, the mutations detected in our sample did not reach statistical significance for the diagnosis of mucinous or malignant cysts. Further studies with larger sample sizes and more sensitive techniques could change these results.

ARTICLE HIGHLIGHTS

Research background

Pancreatic cysts are a common finding on imaging tests performed for other reasons.

Herranz Pérez R *et al.* Molecular analysis of pancreatic cystic neoplasm

Adequate characterization is important considering the risk of malignancy of some of these cysts. However, differentiation between different types of cysts and detection of malignancy just with morphological criteria is suboptimal.

Research motivation

Endoscopic ultrasound-guided fine-needle aspiration (EUS-FNA) and molecular analysis could improve the detection of mucinous (pre-malignant) and malignant cysts.

Research objectives

To determine the diagnostic yield of molecular analysis for the detection of mucinous and malignant cysts in clinical practice.

Research methods

A single center, prospective observational study of consecutive patients over an 18-month period with pancreatic cystic lesions and an indication for EUS-FNA following European clinical practice guidelines was conducted. EUS-FNA with cytological, biochemical with CEA and glucose, and molecular analysis with next-generation sequencing were performed in 36 pancreatic cysts. Next-generation sequencing results were compared for cyst type and malignancy.

Research results

Of the 36 lesions included, 28 (82.4%) were classified as mucinous and 5 (13.9%) lesions as malignant. The amount of DNA obtained was sufficient for molecular analysis in 25 (69.4%) pancreatic cysts. *KRAS* and/or *GNAS* showed 83.33% sensitivity, 60% specificity, 88.24% PPV and 50% NPV ($P = 0.086$) for the diagnosis of mucinous cystic lesions. Mutations in *KRAS* and *GNAS* changed the follow-up plan in 8% of the cysts. None of the mutations analyzed were related to malignancy ($P > 0.05$).

Research conclusions

Molecular cyst fluid analysis obtained by EUS-FNA improved mucinous cyst diagnosis by recategorizing 40% of serous lesions as mucinous cysts. However, the mutations detected in our cohort did not reach statistical significance to confirm the diagnosis of mucinous or malignant cysts.

Research perspectives

Further prospective studies with larger sample sizes are needed to determine the clinical benefit of adding molecular cyst fluid analysis for pancreatic cyst evaluation.

REFERENCES

- 1 Chiang AL, Lee LS. Clinical approach to incidental pancreatic cysts. *World J Gastroenterol* 2016; **22**: 1236-1245 [PMID: 26811661 DOI: 10.3748/wjg.v22.i3.1236]
- 2 Tanaka M, Fernández-del Castillo C, Adsay V, Chari S, Falconi M, Jang JY, Kimura W, Levy P, Pitman MB, Schmidt CM, Shimizu M, Wolfgang CL, Yamaguchi K, Yamao K; International Association of Pancreatologists. International consensus guidelines 2012 for the management of IPMN and MCN of the pancreas. *Pancreatol* 2012; **12**: 183-197 [PMID: 22687371 DOI: 10.1016/j.pan.2012.04.004]
- 3 Tanaka M, Fernández-Del Castillo C, Kamisawa T, Jang JY, Levy P, Ohtsuka T, Salvia R, Shimizu Y, Tada M, Wolfgang CL. Revisions of international consensus Fukuoka guidelines for the management of IPMN of the pancreas. *Pancreatol* 2017; **17**: 738-753 [PMID: 28735806 DOI: 10.1016/j.pan.2017.07.007]
- 4 Basar O, Brugge WR. Which guidelines should be used for branch-duct intraductal papillary mucinous neoplasms? *Gastrointest Endosc* 2016; **84**: 446-449 [PMID: 27530478 DOI: 10.1016/j.gie.2016.04.044]
- 5 Lekkerkerker SJ, Besselink MG, Busch OR, Verheij J, Engelbrecht MR, Rauws EA, Fockens P, van Hooft JE. Comparing 3 guidelines on the management of surgically removed pancreatic cysts with regard to pathological outcome. *Gastrointest Endosc* 2017; **85**: 1025-1031 [PMID: 27693645 DOI: 10.1016/j.gie.2016.09.027]
- 6 Basar O, Brugge WR. Pancreatic cyst guidelines: Which one to live by? *Gastrointest Endosc* 2017; **85**: 1032-1035 [PMID: 28411756 DOI: 10.1016/j.gie.2016.11.003]
- 7 Sugimoto M, Elliott IA, Nguyen AH, Kim S, Muthusamy VR, Watson R, Hines OJ, Dawson DW, Reber HA, Donahue TR. Assessment of a Revised Management Strategy for Patients With Intraductal Papillary Mucinous Neoplasms Involving the Main Pancreatic Duct. *JAMA Surg* 2017; **152**: e163349 [PMID: 27829085 DOI: 10.1001/jamasurg.2016.3349]

- 8 **Chernyak V**, Flusberg M, Haramati LB, Rozenblit AM, Bellin E. Incidental pancreatic cystic lesions: is there a relationship with the development of pancreatic adenocarcinoma and all-cause mortality? *Radiology* 2015; **274**: 161-169 [PMID: 25117591 DOI: 10.1148/radiol.14140796]
- 9 **Choi SH**, Park SH, Kim KW, Lee JY, Lee SS. Progression of Unresected Intraductal Papillary Mucinous Neoplasms of the Pancreas to Cancer: A Systematic Review and Meta-analysis. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2017; **15**: 1509-1520. e4 [PMID: 28342950 DOI: 10.1016/j.cgh.2017.03.020]
- 10 **Singh H**, McGrath K, Singhi AD. Novel Biomarkers for Pancreatic Cysts. *Dig Dis Sci* 2017; **62**: 1796-1807 [PMID: 28197742 DOI: 10.1007/s10620-017-4491-4]
- 11 **European Study Group on Cystic Tumours of the Pancreas**. European evidence-based guidelines on pancreatic cystic neoplasms. *Gut* 2018; **67**: 789-804 [PMID: 29574408 DOI: 10.1136/gutjnl-2018-316027]
- 12 **Singhi AD**, Zeh HJ, Brand RE, Nikiforova MN, Chennat JS, Fasanella KE, Khalid A, Papachristou GI, Slivka A, Hogg M, Lee KK, Tsung A, Zureikat AH, McGrath K. American Gastroenterological Association guidelines are inaccurate in detecting pancreatic cysts with advanced neoplasia: a clinicopathologic study of 225 patients with supporting molecular data. *Gastrointest Endosc* 2016; **83**: 1107-1117. e2 [PMID: 26709110 DOI: 10.1016/j.gie.2015.12.009]
- 13 **van der Waaij LA**, van Dullemen HM, Porte RJ. Cyst fluid analysis in the differential diagnosis of pancreatic cystic lesions: a pooled analysis. *Gastrointest Endosc* 2005; **62**: 383-389 [PMID: 16111956 DOI: 10.1016/s0016-5107(05)01581-6]
- 14 **Rockacy M**, Khalid A. Update on pancreatic cyst fluid analysis. *Ann Gastroenterol* 2013; **26**: 122-127 [PMID: 24714589]
- 15 **Carr RA**, Yip-Schneider MT, Simpson RE, Dolejs S, Schneider JG, Wu H, Ceppa EP, Park W, Schmidt CM. Pancreatic cyst fluid glucose: rapid, inexpensive, and accurate diagnosis of mucinous pancreatic cysts. *Surgery* 2018; **163**: 600-605 [PMID: 29241991 DOI: 10.1016/j.surg.2017.09.051]
- 16 **Zikos T**, Pham K, Bowen R, Chen AM, Banerjee S, Friedland S, Dua MM, Norton JA, Poultsides GA, Visser BC, Park WG. Cyst Fluid Glucose is Rapidly Feasible and Accurate in Diagnosing Mucinous Pancreatic Cysts. *Am J Gastroenterol* 2015; **110**: 909-914 [PMID: 25986360 DOI: 10.1038/ajg.2015.148]
- 17 **Khalid A**, Zahid M, Finkelstein SD, LeBlanc JK, Kaushik N, Ahmad N, Brugge WR, Edmundowicz SA, Hawes RH, McGrath KM. Pancreatic cyst fluid DNA analysis in evaluating pancreatic cysts: a report of the PANDA study. *Gastrointest Endosc* 2009; **69**: 1095-1102 [PMID: 19152896 DOI: 10.1016/j.gie.2008.07.033]
- 18 **Vege SS**, Ziring B, Jain R, Moayyedi P; Clinical Guidelines Committee; American Gastroenterology Association. American gastroenterological association institute guideline on the diagnosis and management of asymptomatic neoplastic pancreatic cysts. *Gastroenterology* 2015; **148**: 819-822; quiz e12 [PMID: 25805375 DOI: 10.1053/j.gastro.2015.01.015]
- 19 **Jones M**, Zheng Z, Wang J, Dudley J, Albanese E, Kadayifci A, Dias-Santagata D, Le L, Brugge WR, Fernandez-del Castillo C, Mino-Kenudson M, Iafrate AJ, Pitman MB. Impact of next-generation sequencing on the clinical diagnosis of pancreatic cysts. *Gastrointest Endosc* 2016; **83**: 140-148 [PMID: 26253016 DOI: 10.1016/j.gie.2015.06.047]
- 20 **Springer S**, Wang Y, Dal Molin M, Masica DL, Jiao Y, Kinde I, Blackford A, Raman SP, Wolfgang CL, Tomita T, Niknafs N, Douville C, Ptak J, Dobbyn L, Allen PJ, Klimstra DS, Schattner MA, Schmidt CM, Yip-Schneider M, Cummings OW, Brand RE, Zeh HJ, Singhi AD, Scarpa A, Salvia R, Malleo G, Zamboni G, Falconi M, Jang JY, Kim SW, Kwon W, Hong SM, Song KB, Kim SC, Swan N, Murphy J, Geoghegan J, Brugge W, Fernandez-Del Castillo C, Mino-Kenudson M, Schulick R, Edil BH, Adsay V, Paulino J, van Hooft J, Yachida S, Nara S, Hiraoka N, Yamao K, Hijioka S, van der Merwe S, Goggins M, Canto MI, Ahuja N, Hirose K, Makary M, Weiss MJ, Cameron J, Pittman M, Eshleman JR, Diaz LA Jr, Papadopoulos N, Kinzler KW, Karchin R, Hruban RH, Vogelstein B, Lennon AM. A combination of molecular markers and clinical features improve the classification of pancreatic cysts. *Gastroenterology* 2015; **149**: 1501-1510 [PMID: 26253305 DOI: 10.1053/j.gastro.2015.07.041]
- 21 **Horwhat JD**, Paulson EK, McGrath K, Branch MS, Baillie J, Tyler D, Pappas T, Enns R, Robuck G, Stiffler H, Jowell P. A randomized comparison of EUS-guided FNA vs CT or US-guided FNA for the evaluation of pancreatic mass lesions. *Gastrointest Endosc* 2006; **63**: 966-975 [PMID: 16733111 DOI: 10.1016/j.gie.2005.09.028]
- 22 **Elta GH**, Enestvedt BK, Sauer BG, Lennon AM. ACG Clinical Guideline: Diagnosis and Management of Pancreatic Cysts. *Am J Gastroenterol* 2018; **113**: 464-479 [PMID: 29485131 DOI: 10.1038/ajg.2018.14]
- 23 **Singhi AD**, McGrath K, Brand RE, Khalid A, Zeh HJ, Chennat JS, Fasanella KE, Papachristou GI, Slivka A, Bartlett DL, Dasyam AK, Hogg M, Lee KK, Marsh JW, Monaco SE, Ohori NP, Pingpank JF, Tsung A, Zureikat AH, Wald AI, Nikiforova MN. Preoperative next-generation sequencing of pancreatic cyst fluid is highly accurate in cyst classification and detection of advanced neoplasia. *Gut* 2018; **67**: 2131-2141 [PMID: 28970292 DOI: 10.1136/gutjnl-2016-313586]
- 24 **Amato E**, Molin MD, Mafficini A, Yu J, Malleo G, Rusev B, Fassan M, Antonello D, Sadakari Y, Castelli P, Zamboni G, Maitra A, Salvia R, Hruban RH, Bassi C, Capelli P, Lawlor RT, Goggins M, Scarpa A. Targeted next-generation sequencing of cancer genes dissects the molecular profiles of intraductal papillary neoplasms of the pancreas. *J Pathol* 2014; **233**: 217-227 [PMID: 24604757 DOI: 10.1002/path.4344]
- 25 **Rockacy MJ**, Zahid M, McGrath KM, Fasanella KE, Khalid A. Association between KRAS

- mutation, detected in pancreatic cyst fluid, and long-term outcomes of patients. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2013; **11**: 425-429 [PMID: 23267865 DOI: 10.1016/j.cgh.2012.12.008]
- 26 **Nikiforova MN**, Khalid A, Fasanella KE, McGrath KM, Brand RE, Chennat JS, Slivka A, Zeh HJ, Zureikat AH, Krasinskas AM, Ohori NP, Schoedel KE, Navina S, Mantha GS, Pai RK, Singhi AD. Integration of KRAS testing in the diagnosis of pancreatic cystic lesions: a clinical experience of 618 pancreatic cysts. *Mod Pathol* 2013; **26**: 1478-1487 [PMID: 23743931 DOI: 10.1038/modpathol.2013.91]
- 27 **Wu J**, Matthaei H, Maitra A, Dal Molin M, Wood LD, Eshleman JR, Goggins M, Canto MI, Schulick RD, Edil BH, Wolfgang CL, Klein AP, Diaz LA Jr, Allen PJ, Schmidt CM, Kinzler KW, Papadopoulos N, Hruban RH, Vogelstein B. Recurrent GNAS mutations define an unexpected pathway for pancreatic cyst development. *Sci Transl Med* 2011; **3**: 92ra66 [PMID: 21775669 DOI: 10.1126/scitranslmed.3002543]
- 28 **Winner M**, Sethi A, Poneris JM, Stavropoulos SN, Francisco P, Lightdale CJ, Allendorf JD, Stevens PD, Gonda TA. The role of molecular analysis in the diagnosis and surveillance of pancreatic cystic neoplasms. *JOP* 2015; **16**: 143-149 [PMID: 25791547 DOI: 10.6092/1590-8577/2941]
- 29 **Wu J**, Jiao Y, Dal Molin M, Maitra A, de Wilde RF, Wood LD, Eshleman JR, Goggins MG, Wolfgang CL, Canto MI, Schulick RD, Edil BH, Choti MA, Adsay V, Klimstra DS, Offerhaus GJ, Klein AP, Kopelovich L, Carter H, Karchin R, Allen PJ, Schmidt CM, Naito Y, Diaz LA Jr, Kinzler KW, Papadopoulos N, Hruban RH, Vogelstein B. Whole-exome sequencing of neoplastic cysts of the pancreas reveals recurrent mutations in components of ubiquitin-dependent pathways. *Proc Natl Acad Sci USA* 2011; **108**: 21188-21193 [PMID: 22158988 DOI: 10.1073/pnas.1118046108]
- 30 **Yu J**, Sadakari Y, Shindo K, Suenaga M, Brant A, Almario JAN, Borges M, Barkley T, Fesharakizadeh S, Ford M, Hruban RH, Shin EJ, Lennon AM, Canto MI, Goggins M. Digital next-generation sequencing identifies low-abundance mutations in pancreatic juice samples collected from the duodenum of patients with pancreatic cancer and intraductal papillary mucinous neoplasms. *Gut* 2017; **66**: 1677-1687 [PMID: 27432539 DOI: 10.1136/gutjnl-2015-311166]
- 31 **McGuigan A**, Kelly P, Turkington RC, Jones C, Coleman HG, McCain RS. Pancreatic cancer: A review of clinical diagnosis, epidemiology, treatment and outcomes. *World J Gastroenterol* 2018; **24**: 4846-4861 [PMID: 30487695 DOI: 10.3748/wjg.v24.i43.4846]
- 32 **Al-Haddad M**, DeWitt J, Sherman S, Schmidt CM, LeBlanc JK, McHenry L, Coté G, El Chafic AH, Luz L, Stuart JS, Johnson CS, Klochan C, Imperiale TF. Performance characteristics of molecular (DNA) analysis for the diagnosis of mucinous pancreatic cysts. *Gastrointest Endosc* 2014; **79**: 79-87 [PMID: 23845445 DOI: 10.1016/j.gie.2013.05.026]
- 33 **Sand JA**, Hyoty MK, Mattila J, Dagorn JC, Nordback IH. Clinical assessment compared with cyst fluid analysis in the differential diagnosis of cystic lesions in the pancreas. *Surgery* 1996; **119**: 275-280 [PMID: 8619182 DOI: 10.1016/s0039-6060(96)80113-9]
- 34 **Kanda M**, Sadakari Y, Borges M, Topazian M, Farrell J, Syngal S, Lee J, Kamel I, Lennon AM, Knight S, Fujiwara S, Hruban RH, Canto MI, Goggins M. Mutant TP53 in duodenal samples of pancreatic juice from patients with pancreatic cancer or high-grade dysplasia. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2013; **11**: 719-30. e5 [PMID: 23200980 DOI: 10.1016/j.cgh.2012.11.016]
- 35 **Dumonceau JM**, Deprez PH, Jenssen C, Iglesias-Garcia J, Larghi A, Vanbiervliet G, Aithal GP, Arcidiacono PG, Bastos P, Carrara S, Czakó L, Fernández-Esparrach G, Fockens P, Ginès A, Havre RF, Hassan C, Vilman P, van Hooft JE, Polkowski M. Indications, results, and clinical impact of endoscopic ultrasound (EUS)-guided sampling in gastroenterology: European Society of Gastrointestinal Endoscopy (ESGE) Clinical Guideline - Updated January 2017. *Endoscopy* 2017; **49**: 695-714 [PMID: 28511234 DOI: 10.1055/s-0043-109021]
- 36 **Malagelada J**. Pancreatic Cystic Lesions. WGO Global Guideline 2019
- 37 **Del Chiaro M**, Verbeke C, Salvia R, Klöppel G, Werner J, McKay C, Friess H, Manfredi R, Van Cutsem E, Lohr M, Segersvärd R; European Study Group on Cystic Tumours of the Pancreas. European experts consensus statement on cystic tumours of the pancreas. *Dig Liver Dis* 2013; **45**: 703-711 [PMID: 23415799 DOI: 10.1016/j.dld.2013.01.010]
- 38 **Lennon AM**, Ahuja N, Wolfgang CL. AGA Guidelines for the Management of Pancreatic Cysts. *Gastroenterology* 2015; **149**: 825 [PMID: 26231607 DOI: 10.1053/j.gastro.2015.05.062]
- 39 **Date K**, Ohtsuka T, Nakamura S, Mochidome N, Mori Y, Miyasaka Y, Oda Y, Nakamura M. Surveillance of patients with intraductal papillary mucinous neoplasm with and without pancreatectomy with special reference to the incidence of concomitant pancreatic ductal adenocarcinoma. *Surgery* 2018; **163**: 291-299 [PMID: 29221879 DOI: 10.1016/j.surg.2017.09.040]
- 40 **Robles EP**, Maire F, Cros J, Vullierme MP, Rebours V, Sauvanet A, Aubert A, Dokmak S, Lévy P, Ruszniewski P. Accuracy of 2012 International Consensus Guidelines for the prediction of malignancy of branch-duct intraductal papillary mucinous neoplasms of the pancreas. *United European Gastroenterol J* 2016; **4**: 580-586 [PMID: 27536368 DOI: 10.1177/2050640615623370]
- 41 **Springer S**, Masica DL, Dal Molin M, Douville C, Thoburn CJ, Afsari B, Li L, Cohen JD, Thompson E, Allen PJ, Klimstra DS, Schattner MA, Schmidt CM, Yip-Schneider M, Simpson RE, Fernandez-Del Castillo C, Mino-Kenudson M, Brugge W, Brand RE, Singhi AD, Scarpa A, Lawlor R, Salvia R, Zamboni G, Hong SM, Hwang DW, Jang JY, Kwon W, Swan N, Geoghegan J, Falconi M, Crippa S, Doglioni C, Paulino J, Schulick RD, Edil BH, Park W, Yachida S, Hijioka S, van Hooft J, He J, Weiss MJ, Burkhart R, Makary M, Canto MI, Goggins MG, Ptak J, Dobbys L, Schaefer J, Sillman N, Popoli M, Klein AP, Tomasetti C, Karchin R, Papadopoulos N, Kinzler KW, Vogelstein B, Wolfgang CL, Hruban RH, Lennon AM. A multimodality test to guide the management of patients with a pancreatic

Herranz Pérez R *et al.* Molecular analysis of pancreatic cystic neoplasm

- cyst. *Sci Transl Med* 2019; **11** [PMID: 31316009 DOI: 10.1126/scitranslmed.aav4772]
- 42 **Brugge WR.** Diagnosis and management of cystic lesions of the pancreas. *J Gastrointest Oncol* 2015; **6**: 375-388 [PMID: 26261724 DOI: 10.3978/j.issn.2078-6891.2015.057]
- 43 **Fernández-del Castillo C,** Targarona J, Thayer SP, Rattner DW, Brugge WR, Warshaw AL. Incidental pancreatic cysts: clinicopathologic characteristics and comparison with symptomatic patients. *Arch Surg* 2003; **138**: 427-433; discussion 433 [PMID: 12686529 DOI: 10.1001/archsurg.138.4.427]

Sesión: Comunicaciones Orales 2**Código presentación: CO-15****Tema: ECOENDOSCOPIA**

Determinación de glucosa intraquística en el estudio de neoplasias quísticas pancreáticas

R. Herranz Pérez⁽¹⁾, F. De La Morena López⁽¹⁾, J.A. Moreno Monteagudo⁽¹⁾, J.A. Jiménez Heffernan⁽¹⁾, P. L. Majano⁽²⁾, F. Molina-Jiménez⁽²⁾, C. Santander Vaquero⁽¹⁾

⁽¹⁾ Hospital Universitario de La Princesa, ⁽²⁾ Unidad de Biología Molecular, Instituto de Investigación Sanitaria Hospital de la Princesa

Texto

INTRODUCCIÓN: La importancia de la correcta identificación de los quistes pancreáticos de stirpe mucinosa radica en su potencial de malignidad asociado. El parámetro bioquímico del análisis del líquido del quiste más empleado para el diagnóstico de quistes mucinosos es el antígeno carcinoma embrionario (CEA). No obstante, su precisión diagnóstica es baja. Según la evidencia reciente los niveles de glucosa intraquísticos podrían aportar una sensibilidad y especificidad más elevadas.

OBJETIVO: Evaluar la sensibilidad y especificidad de los niveles de glucosa intraquística para la detección de neoplasias quísticas mucinosas y establecer el punto de corte óptimo.

MATERIAL Y MÉTODOS: Estudio prospectivo (NCT03740360) en el que se reclutaron pacientes remitidos por hallazgo radiológico de neoplasia quística pancreática > 15mm a los que se realizó ecoendoscopia con punción y análisis del líquido (CEA, glucosa y citología). Empleamos una curva ROC para establecer el punto de corte óptimo y comparamos los resultados obtenidos con dicho punto de corte y con el establecido en estudios previos: glucosa < 50 mg/dl. El patrón oro para el diagnóstico fue el análisis histopatológico o la tinción de mucinas en ausencia del previo.

RESULTADOS: Se incluyeron 16 pacientes: 10 mucinosos y 6 no mucinosos. El área bajo la curva ROC fue 0,858 (IC 95% 0,660 - 1,000). El punto de corte óptimo en nuestro estudio fue glucosa ≤ 70,5 mg/dl. En nuestra serie el punto de corte glucosa 50 mg/dl presentó sensibilidad 80% y especificidad del 67% (p = 0,118), mientras que el punto de corte glucosa 70,5 mg/dl, presentó sensibilidad 100% y especificidad del 67% (p = 0,008).

CONCLUSIONES: La determinación de glucosa intraquística aporta información adicional a los niveles de CEA y podría considerarse de forma rutinaria. En nuestro estudio el punto de corte 70,5 mg/dl es más sensible para la detección de mucinosos sin modificar la especificidad.

Sesión: E-Posters**Código presentación: P-103****Tema: ECOENDOSCOPIA**

Utilidad de la tinción de mucinas para el diagnóstico de neoplasias quísticas mucinosas

R. Herranz Pérez⁽¹⁾, F. De La Morena López⁽¹⁾, J.A. Moreno Monteagudo⁽¹⁾, A. Freih Fraih⁽¹⁾, J.A. Jiménez Heffernan⁽¹⁾, F. Molina-Jiménez⁽²⁾, P. L. Majano⁽²⁾, C. Santander Vaquero⁽¹⁾

⁽¹⁾ Hospital Universitario de la Princesa, ⁽²⁾ Instituto de Investigación Sanitaria Hospital de la Princesa

Texto

INTRODUCCIÓN: Los quistes pancreáticos son un hallazgo frecuente en pruebas de imagen realizadas por otros motivos. Dichas lesiones pueden ser benignas o tener potencial de malignizar, como es el caso de las neoplasias quísticas mucinosas. Frecuentemente no es posible llegar al diagnóstico del tipo de neoplasia quística pancreática por criterios morfológicos y bioquímicos convencionales. El análisis citológico aporta una elevada especificidad pero baja sensibilidad para el diagnóstico de lesiones mucinosas. La tinción con azul alcian para la detección de mucinas ha demostrado aumentar la precisión diagnóstica respecto a la citología convencional.

OBJETIVO: Evaluar la sensibilidad y especificidad de la tinción de mucinas para el diagnóstico de neoplasias quísticas de estirpe mucinosa.

MATERIAL Y MÉTODOS: Estudio prospectivo observacional (NCT03740360) en el que se reclutaron pacientes con quistes pancreáticos a los que se realizó ecoendoscopia con punción y análisis del líquido. Se realizó análisis bioquímico y citológico con tinción azul alcian para mucinas. Se comparó el análisis histológico en caso de disponerse o bioquímico en su defecto estableciendo como punto de corte del CEA 192ng/ml y glucosa 50mg/dl, con la tinción de mucinas para la detección de neoplasias quísticas mucinosas.

RESULTADOS: Se incluyeron 36 pacientes: 28 (82,4%) pacientes fueron clasificados como mucinosos y 6 (17,6%) como no mucinosos por criterios histopatológicos o bioquímicos. Dos pacientes fueron excluidos por no obtener suficiente material para análisis bioquímico. La tinción de mucinas resultó negativa en 12 pacientes (35,5%) y positiva en 22 pacientes (78,6%). La sensibilidad y especificidad de la tinción de mucinas para el diagnóstico de mucinosos fue del 78,6% y 100% respectivamente ($p = 0,001$).

CONCLUSIONES: La tinción de mucinas es una técnica citológica complementaria y simultánea al análisis citológico cuyo empleo resulta de utilidad para la detección de neoplasias quísticas mucinosas.

Sesión: E-Posters**Código presentación: P-439****Tema: ECOENDOSCOPIA****UTILIDAD DE LOS CONTRASTES ECOGRÁFICOS EN EL DIAGNÓSTICO POR ECOENDOSCOPIA DE LAS NEOPLASIAS QUÍSTICAS PANCREÁTICAS**

R. Herranz Pérez⁽¹⁾, F. De La Morena López⁽¹⁾, J.A. Moreno Monteagudo⁽¹⁾, J.A. Jiménez Hefferman⁽¹⁾, A. Freih Fraih⁽¹⁾, P. L. Majano⁽²⁾, F. Molina-Jiménez⁽²⁾, C. Santander Vaquero⁽¹⁾

⁽¹⁾ Hospital Universitario de la Princesa, ⁽²⁾ Instituto de Investigación Sanitaria Hospital de la Princesa

Texto

INTRODUCCIÓN: Los contrastes ecográficos proporcionan información sobre la microvascularización de tejidos y lesiones. La ecoendoscopia con contraste (USE-CE) ha demostrado ser útil en la caracterización de lesiones sólidas pancreáticas y en su estadificación. En las lesiones quísticas permite valorar el patrón de captación de sus paredes y diferenciar acúmulo de mucina de nódulo mural, cuya presencia se asocia con malignidad.

DESCRIPCIÓN BREVE DE LA TÉCNICA

Estudio prospectivo (NCT03740360) realizado entre junio 2017 y diciembre 2018 en el que se incluyeron 36 pacientes remitidos a la unidad de endoscopias por hallazgo mediante método de imagen radiológico de neoplasia quística pancreática > 15mm. Se realizó USE-CE con Sonovue en 33 pacientes y se analizó mediante grabación y subsiguiente análisis por dos endoscopistas expertos independientes el patrón de captación de las paredes, septos y nódulos en caso de presentarse. En 18 pacientes el patrón parietal fue hipocaptante o isocaptante, en 12 pacientes el patrón fue hipercaptante y en 3 pacientes se apreció un componente sólido hipocaptante y paredes hipercaptantes. No hubo diferencias estadísticamente significativas entre los patrones de captación y los diferentes tipos de quistes clasificados por análisis histopatológico, citología y bioquímico. El patrón componente sólido hipocaptante y paredes hipercaptantes se asocio de forma estadísticamente significativa ($p < 0,005$) con malignidad con una sensibilidad del 50% y especificidad del 100%, exponemos en el siguiente vídeo dichos casos.

CONCLUSIONES

El hallazgo de componente sólido hipocaptante y paredes hipercaptantes en el estudio mediante USE-CE de lesiones quísticas pancreáticas relacionó en nuestro estudio con malignidad.

Sesión: E-Posters**Código presentación: P-108****Tema: ECOENDOSCOPIA**

Estudio prospectivo de los criterios endosonográficos de sospecha de malignidad en pacientes con quistes pancreáticos

R. Herranz Pérez ⁽¹⁾, F. De La Morena López ⁽¹⁾, A. Freih Fraih ⁽¹⁾, J.A. Jiménez Hefferman ⁽¹⁾, J.A. Moreno Monteagudo ⁽¹⁾, F. Molina-Jiménez ⁽²⁾, P. L. Majano ⁽²⁾, C. Santander Vaquero ⁽¹⁾

⁽¹⁾ Hospital Universitario de la Princesa, ⁽²⁾ Instituto de Investigación Sanitaria Hospital de la Princesa

Texto

INTRODUCCIÓN: El aumento de la realización de pruebas de imagen abdominales y el envejecimiento de la población ha ocasionado un incremento en el diagnóstico incidental de quistes pancreáticos. Tan solo un pequeño porcentaje presenta malignidad en el momento del diagnóstico y sólo algunos de ellos, como los de estirpe mucinosa, tienen potencial de malignizar. Su hallazgo en ocasiones conlleva la realización de múltiples pruebas diagnósticas e incluso cirugía de forma innecesaria.

OBJETIVO: Evaluar los hallazgos clínicos y morfológicos por ecoendoscopia relacionados con malignidad

MATERIAL Y MÉTODOS: Estudio prospectivo (NCT03740360) en el que se incluyeron pacientes remitidos a la unidad de endoscopias por hallazgo radiológico de neoplasia quística pancreática > 15mm a los que se realizó ecoendoscopia digestiva alta. Se estudió si la presencia de hallazgos morfológicos: tamaño de la lesión, dilatación del conducto pancreático principal (CPP), presencia de nódulo mural, comunicación con el CPP, multifocalidad y la presencia de síntomas, se relacionaban con malignidad.

RESULTADOS: De los 36 pacientes remitidos a la unidad de endoscopias, 8 (22,2%) fueron diagnosticados de quistes malignos por análisis histopatológico o evolución clínica según criterios estándar. Las variables en nuestro estudio relacionadas con malignidad fueron la presencia de síntomas [$p < 0,001$, OR 58,333 (IC95%: 5,22 – 651,6)], la dilatación del CPP ≥ 3 mm [$p = 0,040$, OR 3,79 (IC95%: 1,09 – 13,13)] y el tamaño de lesión ≥ 3 cm [$p = 0,005$, OR 6,82 (IC95%: 1,62 – 28,62)].

CONCLUSIONES: El tamaño > 3 cm, la dilatación del conducto pancreático principal y la presencia de síntomas en nuestro estudio son hallazgos que se relacionan con malignidad. Ante estos hallazgos sugerimos la realización de ecoendoscopia con punción para valorar criterios citopatológicos de malignidad y en su defecto determinar la estirpe del quiste pancreático.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Jais B, Rebours V, Malleo G, et al. Serous cystic neoplasm of the pancreas: a multinational study of 2622 patients under the auspices of the International Association of Pancreatology and European Pancreatic Club (European Study Group on Cystic Tumors of the Pancreas). *Gut* 2016;65:305-12.
2. Tanaka M, Fernandez-del Castillo C, Adsay V, et al. International consensus guidelines 2012 for the management of IPMN and MCN of the pancreas. *Pancreatology : official journal of the International Association of Pancreatology (IAP)* [et al] 2012;12:183-97.
3. Tanaka M, Fernandez-Del Castillo C, Kamisawa T, et al. Revisions of international consensus Fukuoka guidelines for the management of IPMN of the pancreas. *Pancreatology : official journal of the International Association of Pancreatology (IAP)* [et al] 2017;17:738-53.
4. Chiang AL, Lee LS. Clinical approach to incidental pancreatic cysts. *World journal of gastroenterology* 2016;22:1236-45.
5. Munigala S, Gelrud A, Agarwal B. Risk of pancreatic cancer in patients with pancreatic cyst. *Gastrointestinal endoscopy* 2016;84:81-6.
6. Kromrey ML, Bulow R, Hubner J, et al. Prospective study on the incidence, prevalence and 5-year pancreatic-related mortality of pancreatic cysts in a population-based study. *Gut* 2018;67:138-45.
7. Muthusamy VR, Chandrasekhara V, Acosta RD, et al. The role of endoscopy in the diagnosis and treatment of cystic pancreatic neoplasms. *Gastrointestinal endoscopy* 2016;84:1-9.
8. Pérez R, López F, Vaquero C. Neoplasias quísticas pancreáticas, enfoque diagnóstico. *Revista Colombiana de Gastroenterología* 2019;34:52.
9. Basar O, Brugge WR. Pancreatic cyst guidelines: Which one to live by? *Gastrointestinal endoscopy* 2017;85:1032-5.
10. Lekkerkerker SJ, Besselink MG, Busch OR, et al. Comparing 3 guidelines on the management of surgically removed pancreatic cysts with regard to pathological outcome. *Gastrointestinal endoscopy* 2016.
11. Date K, Ohtsuka T, Nakamura S, et al. Surveillance of patients with intraductal papillary mucinous neoplasm with and without pancreatectomy with special reference to the incidence of concomitant pancreatic ductal adenocarcinoma. *Surgery* 2018;163:291-9.
12. Choi SH, Park SH, Kim KW, Lee JY, Lee SS. Progression of Unresected Intraductal Papillary Mucinous Neoplasms of the Pancreas to Cancer: A Systematic Review and Meta-analysis. *Clinical gastroenterology and hepatology : the official clinical practice journal of the American Gastroenterological Association* 2017.
13. Singh H, McGrath K, Singhi AD. Novel Biomarkers for Pancreatic Cysts. *Digestive diseases and sciences* 2017;62:1796-807.
14. Fisher WE, Hodges SE, Yagnik V, et al. Accuracy of CT in predicting malignant potential of cystic pancreatic neoplasms. *HPB : the official journal of the International Hepato Pancreato Biliary Association* 2008;10:483-90.
15. Singhi AD, Zeh HJ, Brand RE, et al. American Gastroenterological Association guidelines are inaccurate in detecting pancreatic cysts with advanced neoplasia: a

clinicopathologic study of 225 patients with supporting molecular data. *Gastrointestinal endoscopy* 2016;83:1107-17.e2.

16. Khashab MA, Kim K, Lennon AM, et al. Should we do EUS/FNA on patients with pancreatic cysts? The incremental diagnostic yield of EUS over CT/MRI for prediction of cystic neoplasms. *Pancreas* 2013;42:717-21.
17. van der Waaij LA, van Dullemen HM, Porte RJ. Cyst fluid analysis in the differential diagnosis of pancreatic cystic lesions: a pooled analysis. *Gastrointestinal endoscopy* 2005;62:383-9.
18. Jones M, Zheng Z, Wang J, et al. Impact of next-generation sequencing on the clinical diagnosis of pancreatic cysts. *Gastrointestinal endoscopy* 2016;83:140-8.
19. Singhi AD, McGrath K, Brand RE, et al. Preoperative next-generation sequencing of pancreatic cyst fluid is highly accurate in cyst classification and detection of advanced neoplasia. *Gut* 2017.
20. Dumonceau JM, Deprez PH, Jenssen C, et al. Indications, results, and clinical impact of endoscopic ultrasound (EUS)-guided sampling in gastroenterology: European Society of Gastrointestinal Endoscopy (ESGE) Clinical Guideline - Updated January 2017. *Endoscopy* 2017;49:695-714.
21. Farrell JJ, Fernandez-del Castillo C. Pancreatic cystic neoplasms: management and unanswered questions. *Gastroenterology* 2013;144:1303-15.
22. Kamata K, Kitano M, Omoto S, et al. Contrast-enhanced harmonic endoscopic ultrasonography for differential diagnosis of pancreatic cysts. *Endoscopy* 2016;48:35-41.
23. Rawla P, Sunkara T, Gaduputi V. Epidemiology of Pancreatic Cancer: Global Trends, Etiology and Risk Factors. *World J Oncol* 2019;10:10-27.
24. Brugge WR. Diagnosis and management of cystic lesions of the pancreas. *Journal of gastrointestinal oncology* 2015;6:375-88.
25. de Jong K, Bruno MJ, Fockens P. Epidemiology, diagnosis, and management of cystic lesions of the pancreas. *Gastroenterology research and practice* 2012;2012:147465.
26. Lee ES, Lee JM. Imaging diagnosis of pancreatic cancer: a state-of-the-art review. *World journal of gastroenterology* 2014;20:7864-77.
27. Legmann P, Vignaux O, Dousset B, et al. Pancreatic tumors: comparison of dual-phase helical CT and endoscopic sonography. *AJR American journal of roentgenology* 1998;170:1315-22.
28. Xu MM, Sethi A. Imaging of the Pancreas. *Gastroenterology clinics of North America* 2016;45:101-16.
29. Dewhurst CE, Morteale KJ. Cystic tumors of the pancreas: imaging and management. *Radiologic clinics of North America* 2012;50:467-86.
30. European Study Group on Cystic Tumours of the P. European evidence-based guidelines on pancreatic cystic neoplasms. *Gut* 2018;67:789-804.
31. Elta GH, Enestvedt BK, Sauer BG, Lennon AM. ACG Clinical Guideline: Diagnosis and Management of Pancreatic Cysts. *The American journal of gastroenterology* 2018;113:464-79.
32. Sahani DV, Sainani NI, Blake MA, Crippa S, Mino-Kenudson M, del-Castillo CF. Prospective evaluation of reader performance on MDCT in characterization of cystic pancreatic lesions and prediction of cyst biologic aggressiveness. *AJR American journal of roentgenology* 2011;197:W53-61.

33. Waters JA, Schmidt CM, Pinchot JW, et al. CT vs MRCP: optimal classification of IPMN type and extent. *Journal of gastrointestinal surgery : official journal of the Society for Surgery of the Alimentary Tract* 2008;12:101-9.
34. O'Neill E, Hammond N, Miller FH. MR imaging of the pancreas. *Radiologic clinics of North America* 2014;52:757-77.
35. Lopez Hanninen E, Amthauer H, Hosten N, et al. Prospective evaluation of pancreatic tumors: accuracy of MR imaging with MR cholangiopancreatography and MR angiography. *Radiology* 2002;224:34-41.
36. Boraschi P, Donati F, Cervelli R, Pacciardi F. Secretin-stimulated MR cholangiopancreatography: spectrum of findings in pancreatic diseases. *Insights Imaging* 2016;7:819-29.
37. Balci NC, Smith A, Momtahan AJ, et al. MRI and S-MRCP findings in patients with suspected chronic pancreatitis: correlation with endoscopic pancreatic function testing (ePFT). *J Magn Reson Imaging* 2010;31:601-6.
38. Kim JH, Eun HW, Park HJ, Hong SS, Kim YJ. Diagnostic performance of MRI and EUS in the differentiation of benign from malignant pancreatic cyst and cyst communication with the main duct. *European journal of radiology* 2012;81:2927-35.
39. Macari M, Finn ME, Bennett GL, et al. Differentiating pancreatic cystic neoplasms from pancreatic pseudocysts at MR imaging: value of perceived internal debris. *Radiology* 2009;251:77-84.
40. Sainani NI, Saokar A, Deshpande V, Fernandez-del Castillo C, Hahn P, Sahani DV. Comparative performance of MDCT and MRI with MR cholangiopancreatography in characterizing small pancreatic cysts. *AJR American journal of roentgenology* 2009;193:722-31.
41. Kim YC, Choi JY, Chung YE, et al. Comparison of MRI and endoscopic ultrasound in the characterization of pancreatic cystic lesions. *AJR American journal of roentgenology* 2010;195:947-52.
42. Rose DM, Delbeke D, Beauchamp RD, et al. 18Fluorodeoxyglucose-positron emission tomography in the management of patients with suspected pancreatic cancer. *Annals of surgery* 1999;229:729-37; discussion 37-8.
43. Beliao S, Ferreira A, Vierasu I, et al. MR imaging versus PET/CT for evaluation of pancreatic lesions. *European journal of radiology* 2012;81:2527-32.
44. Sperti C, Pasquali C, Chierichetti F, Liessi G, Ferlin G, Pedrazzoli S. Value of 18-fluorodeoxyglucose positron emission tomography in the management of patients with cystic tumors of the pancreas. *Annals of surgery* 2001;234:675-80.
45. Arango LAM DC. Ultrasonido endoscópico en patologías del páncreas *Rev Med Clin Condes* 2015;26(5): 634–48.
46. Sakamoto H, Kitano M, Kamata K, El-Masry M, Kudo M. Diagnosis of pancreatic tumors by endoscopic ultrasonography. *World journal of radiology* 2010;2:122-34.
47. Hunt GC, Faigel DO. Assessment of EUS for diagnosing, staging, and determining resectability of pancreatic cancer: a review. *Gastrointestinal endoscopy* 2002;55:232-7.
48. Palazzo L. Ecoendoscopia del páncreas. *Gastroenterología y Hepatología* 2002;25:26-34.
49. Alvarez-Sanchez MV, Napoleon B. Contrast-enhanced harmonic endoscopic ultrasound imaging: basic principles, present situation and future perspectives. *World journal of gastroenterology* 2014;20:15549-63.
50. JEM. D. Posibilidades diagnósticas en el carcinoma de páncreas:

ecografía endoscópica, PAAF transduodenal y percutánea. *Oncología* 2004; 27 (4)::190-2.

51. Gonzalo-Marin J, Vila JJ, Perez-Miranda M. Role of endoscopic ultrasound in the diagnosis of pancreatic cancer. *World J Gastrointest Oncol* 2014;6:360-8.
52. Kitano M, Yoshida T, Itonaga M, Tamura T, Hatamaru K, Yamashita Y. Impact of endoscopic ultrasonography on diagnosis of pancreatic cancer. *J Gastroenterol* 2019;54:19-32.
53. Tellez-Avila FI, Chavez-Tapia NC, Lopez-Arce G, et al. Vascular invasion in pancreatic cancer: predictive values for endoscopic ultrasound and computed tomography imaging. *Pancreas* 2012;41:636-8.
54. Nawaz H, Fan CY, Klope J, et al. Performance characteristics of endoscopic ultrasound in the staging of pancreatic cancer: a meta-analysis. *JOP : Journal of the pancreas* 2013;14:484-97.
55. Goncalves B, Soares JB, Bastos P. Endoscopic Ultrasound in the Diagnosis and Staging of Pancreatic Cancer. *GE Port J Gastroenterol* 2015;22:161-71.
56. Tanaka M, Chari S, Adsay V, et al. International consensus guidelines for management of intraductal papillary mucinous neoplasms and mucinous cystic neoplasms of the pancreas. *Pancreatology : official journal of the International Association of Pancreatology (IAP)* [et al] 2006;6:17-32.
57. Bhutani MS, Gupta V, Guha S, Gheonea DI, Saftoiu A. Pancreatic cyst fluid analysis-a review. *Journal of gastrointestinal and liver diseases : JGLD* 2011;20:175-80.
58. Sedlack R, Affi A, Vazquez-Sequeiros E, Norton ID, Clain JE, Wiersema MJ. Utility of EUS in the evaluation of cystic pancreatic lesions. *Gastrointestinal endoscopy* 2002;56:543-7.
59. Brugge WR, Lewandrowski K, Lee-Lewandrowski E, et al. Diagnosis of pancreatic cystic neoplasms: a report of the cooperative pancreatic cyst study. *Gastroenterology* 2004;126:1330-6.
60. Huang ES, Turner BG, Fernandez-Del-Castillo C, Brugge WR, Hur C. Pancreatic cystic lesions: clinical predictors of malignancy in patients undergoing surgery. *Alimentary pharmacology & therapeutics* 2010;31:285-94.
61. Kadiyala V, Lee LS. Endosonography in the diagnosis and management of pancreatic cysts. *World Journal of Gastrointestinal Endoscopy* 2015;7:213-23.
62. Hocke M, Cui XW, Domagk D, Ignee A, Dietrich CF. Pancreatic cystic lesions: The value of contrast-enhanced endoscopic ultrasound to influence the clinical pathway. *Endoscopic ultrasound* 2014;3:123-30.
63. Committee ASoP, Eloubeidi MA, Decker GA, et al. The role of endoscopy in the evaluation and management of patients with solid pancreatic neoplasia. *Gastrointestinal endoscopy* 2016;83:17-28.
64. Ahmad NA, Kochman ML, Brensinger C, et al. Interobserver agreement among endosonographers for the diagnosis of neoplastic versus non-neoplastic pancreatic cystic lesions. *Gastrointestinal endoscopy* 2003;58:59-64.
65. de Jong K, Verlaan T, Dijkgraaf MG, et al. Interobserver agreement for endosonography in the diagnosis of pancreatic cysts. *Endoscopy* 2011;43:579-84.
66. Das A, Sivak MV, Jr., Chak A. Cervical esophageal perforation during EUS: a national survey. *Gastrointestinal endoscopy* 2001;53:599-602.
67. Eloubeidi MA, Tamhane A, Lopes TL, Morgan DE, Cerfolio RJ. Cervical esophageal perforations at the time of endoscopic ultrasound: a prospective evaluation of frequency,

outcomes, and patient management. The American journal of gastroenterology 2009;104:53-6.

68. Pellise. OSM. Complicaciones de la ecoendoscopia Fundación Española de Endoscopia Digestiva 2008.

69. Early DS, Acosta RD, Chandrasekhara V, et al. Adverse events associated with EUS and EUS with FNA. Gastrointestinal endoscopy 2013;77:839-43.

70. Ben-Menachem T, Decker GA, Early DS, et al. Adverse events of upper GI endoscopy. Gastrointestinal endoscopy 2012;76:707-18.

71. Gangi S, Saidi F, Patel K, Johnstone B, Jaeger J, Shine D. Cardiovascular complications after GI endoscopy: occurrence and risks in a large hospital system. Gastrointestinal endoscopy 2004;60:679-85.

72. Bell GD, Bown S, Morden A, Coady T, Logan RF. Prevention of hypoxaemia during upper-gastrointestinal endoscopy by means of oxygen via nasal cannulae. Lancet (London, England) 1987;1:1022-4.

73. Anderson MA, Ben-Menachem T, Gan SI, et al. Management of antithrombotic agents for endoscopic procedures. Gastrointestinal endoscopy 2009;70:1060-70.

74. Montalvo RD, Lee M. Retrospective analysis of iatrogenic Mallory-Weiss tears occurring during upper gastrointestinal endoscopy. Hepato-gastroenterology 1996;43:174-7.

75. Jani BS, Rzuouq F, Saligram S, et al. Endoscopic Ultrasound-Guided Fine-Needle Aspiration of Pancreatic Lesions: A Systematic Review of Technical and Procedural Variables. North American journal of medical sciences 2016;8:1-11.

76. Bang JY, Ramesh J, Trevino J, Eloubeidi MA, Varadarajulu S. Objective assessment of an algorithmic approach to EUS-guided FNA and interventions. Gastrointestinal endoscopy 2013;77:739-44.

77. Pellisé MR-M, F; Fernández-Esparrach, G; Ginès, A. Punción aspirativa guiada por ultrasonografía endoscópica. GH CONTINUADA 2003;VOL. 2 N.o 4.

78. Fernández-Esparrach G, Bordas JM, Ginès À. Ultrasonografía endoscópica en el estudio del páncreas. Medicina Clínica 2002;118:665-70.

79. Nguyen TTH, Lee CE, Whang CS, et al. A Comparison of the Diagnostic Yield and Specimen Adequacy Between 22 and 25 Gauge Needles for Endoscopic Ultrasound Guided Fine-Needle Aspiration (EUS-FNA) of Solid Pancreatic Lesions (SPL): Is Bigger Better? Gastrointestinal endoscopy;67:AB100.

80. Gines A, Vazquez-Sequeiros E, Soria MT, Clain JE, Wiersema MJ. Usefulness of EUS-guided fine needle aspiration (EUS-FNA) in the diagnosis of functioning neuroendocrine tumors. Gastrointestinal endoscopy 2002;56:291-6.

81. Ardengh JC, Lopes CV, Campos AD, Pereira de Lima LF, Venco F, Modena JL. Endoscopic ultrasound and fine needle aspiration in chronic pancreatitis: differential diagnosis between pseudotumoral masses and pancreatic cancer. JOP : Journal of the pancreas 2007;8:413-21.

82. Arguello L, Fernandez-Esparrach G, Gines A. [Endoscopic ultrasonography and pancreatic cystic lesions]. Med Clin (Barc) 2005;124:266-70.

83. Rockacy M, Khalid A. Update on pancreatic cyst fluid analysis. Annals of gastroenterology : quarterly publication of the Hellenic Society of Gastroenterology 2013;26:122-7.

84. Atef E, El Nakeeb A, El Hanafy E, El Hemaly M, Hamdy E, El-Geidie A. Pancreatic cystic neoplasms: predictors of malignant behavior and management. Saudi journal of

gastroenterology : official journal of the Saudi Gastroenterology Association 2013;19:45-53.

85. Sawhney MS, Al-Bashir S, Cury MS, et al. International consensus guidelines for surgical resection of mucinous neoplasms cannot be applied to all cystic lesions of the pancreas. *Clinical gastroenterology and hepatology : the official clinical practice journal of the American Gastroenterological Association* 2009;7:1373-6.

86. Frossard JL, Amouyal P, Amouyal G, et al. Performance of endosonography-guided fine needle aspiration and biopsy in the diagnosis of pancreatic cystic lesions. *The American journal of gastroenterology* 2003;98:1516-24.

87. Thornton GD, McPhail MJ, Nayagam S, Hewitt MJ, Vlavianos P, Monahan KJ. Endoscopic ultrasound guided fine needle aspiration for the diagnosis of pancreatic cystic neoplasms: a meta-analysis. *Pancreatology : official journal of the International Association of Pancreatology (IAP) [et al]* 2013;13:48-57.

88. Bick BL, Enders FT, Levy MJ, et al. The string sign for diagnosis of mucinous pancreatic cysts. *Endoscopy* 2015;47:626-31.

89. Leung KK, Ross WA, Evans D, et al. Pancreatic cystic neoplasm: the role of cyst morphology, cyst fluid analysis, and expectant management. *Annals of surgical oncology* 2009;16:2818-24.

90. Pitman MB, Layfield LJ. Guidelines for pancreaticobiliary cytology from the Papanicolaou Society of Cytopathology: A review. *Cancer cytopathology* 2014;122:399-411.

91. Martin AK, Zhou Z. Endoscopic ultrasound-guided fine-needle aspiration for the diagnosis of pancreatic cysts by combined cytopathology and cystic content analysis. *World Journal of Gastrointestinal Endoscopy* 2015;7:1157-69.

92. Vege SS, Ziring B, Jain R, Moayyedi P. American gastroenterological association institute guideline on the diagnosis and management of asymptomatic neoplastic pancreatic cysts. *Gastroenterology* 2015;148:819-22; quiz12-3.

93. Cizginer S, Turner BG, Bilge AR, Karaca C, Pitman MB, Brugge WR. Cyst fluid carcinoembryonic antigen is an accurate diagnostic marker of pancreatic mucinous cysts. *Pancreas* 2011;40:1024-8.

94. Rogart JN, Loren DE, Singu BS, Kowalski TE. Cyst wall puncture and aspiration during EUS-guided fine needle aspiration may increase the diagnostic yield of mucinous cysts of the pancreas. *Journal of clinical gastroenterology* 2011;45:164-9.

95. Hong SK, Loren DE, Rogart JN, et al. Targeted cyst wall puncture and aspiration during EUS-FNA increases the diagnostic yield of premalignant and malignant pancreatic cysts. *Gastrointestinal endoscopy* 2012;75:775-82.

96. Barresi L, Tarantino I, Traina M, et al. Endoscopic ultrasound-guided fine needle aspiration and biopsy using a 22-gauge needle with side fenestration in pancreatic cystic lesions. *Digestive and liver disease : official journal of the Italian Society of Gastroenterology and the Italian Association for the Study of the Liver* 2014;46:45-50.

97. Larino-Noia J, de la Iglesia D, Iglesias-Garcia J, et al. Endoscopic ultrasound cytologic brushing vs endoscopic ultrasound - fine needle aspiration for cytological diagnosis of cystic pancreatic lesions. A multicenter, randomized open-label trial. *Revista española de enfermedades digestivas : organo oficial de la Sociedad Española de Patología Digestiva* 2018;110:478-84.

98. Sendino O, Fernandez-Esparrach G, Sole M, et al. Endoscopic ultrasonography-guided brushing increases cellular diagnosis of pancreatic cysts: A prospective study.

Digestive and liver disease : official journal of the Italian Society of Gastroenterology and the Italian Association for the Study of the Liver 2010;42:877-81.

99. Al-Haddad M, Gill KR, Raimondo M, et al. Safety and efficacy of cytology brushings versus standard fine-needle aspiration in evaluating cystic pancreatic lesions: a controlled study. *Endoscopy* 2010;42:127-32.

100. Thomas T, Bebb J, Mannath J, Ragunath K, Kaye PV, Aithal GP. EUS-guided pancreatic cyst brushing: a comparative study in a tertiary referral centre. *JOP : Journal of the pancreas* 2010;11:163-9.

101. Li F, Malli A, Cruz-Monserrate Z, Conwell DL, Krishna SG. Confocal endomicroscopy and cyst fluid molecular analysis: Comprehensive evaluation of pancreatic cysts. *World Journal of Gastrointestinal Endoscopy* 2018;10:1-9.

102. Salom F, Prat F. Current indications and yield of endoscopic ultrasound and ancillary techniques in pancreatic cystic neoplasms. *Clin J Gastroenterol* 2018.

103. Konda VJ, Meining A, Jamil LH, et al. A pilot study of in vivo identification of pancreatic cystic neoplasms with needle-based confocal laser endomicroscopy under endosonographic guidance. *Endoscopy* 2013;45:1006-13.

104. Nakai Y, Iwashita T, Park DH, Samarasekera JB, Lee JG, Chang KJ. Diagnosis of pancreatic cysts: EUS-guided, through-the-needle confocal laser-induced endomicroscopy and cystoscopy trial: DETECT study. *Gastrointestinal endoscopy* 2015;81:1204-14.

105. Barresi L, Tacelli M, Tarantino I, Cipolletta F, Granata A, Traina M. Improving the yield of EUS-guided histology. *Endoscopic ultrasound* 2018;7:301-5.

106. Mittal C, Obuch JC, Hammad H, et al. Technical feasibility, diagnostic yield, and safety of microforceps biopsies during EUS evaluation of pancreatic cystic lesions (with video). *Gastrointestinal endoscopy* 2018;87:1263-9.

107. Basar O, Yuksel O, Yang DJ, et al. Feasibility and safety of microforceps biopsy in the diagnosis of pancreatic cysts. *Gastrointestinal endoscopy* 2018;88:79-86.

108. Barresi L, Crino SF, Fabbri C, et al. Endoscopic ultrasound-through-the-needle biopsy in pancreatic cystic lesions: A multicenter study. *Digestive endoscopy : official journal of the Japan Gastroenterological Endoscopy Society* 2018;30:760-70.

109. Morris-Stiff G, Lentz G, Chalikonda S, et al. Pancreatic cyst aspiration analysis for cystic neoplasms: mucin or carcinoembryonic antigen--which is better? *Surgery* 2010;148:638-44; discussion 44-5.

110. Alhayaf N, Bigam D, Kneteman N, Shapiro J, Sandha G. Mucin Stain of Endoscopic Ultrasound-Guided Pancreatic Cyst Fluid Is Independently Predictive of Mucinous Cystic Neoplasms. *Gastrointestinal endoscopy* 2007;65:AB303.

111. Streitz JM, Madden MT, Salo W, Bernadino KP, Deutsch JL, Deutsch JC. Differentiation of mucinous from non-mucinous pancreatic cyst fluid using dual-stained, 1 dimensional polyacrylamide gel electrophoresis. *Clin Proteomics* 2014;11:42.

112. Malagelada J. Pancreatic Cystic Lesions. *WGO Global Guideline* 2019.

113. Ryu JK, Woo SM, Hwang JH, et al. Cyst fluid analysis for the differential diagnosis of pancreatic cysts. *Diagnostic cytopathology* 2004;31:100-5.

114. Nakai Y, Isayama H, Itoi T, et al. Role of endoscopic ultrasonography in pancreatic cystic neoplasms: where do we stand and where will we go? *Digestive endoscopy : official journal of the Japan Gastroenterological Endoscopy Society* 2014;26:135-43.

115. Carr RA, Yip-Schneider MT, Simpson RE, et al. Pancreatic cyst fluid glucose: rapid, inexpensive, and accurate diagnosis of mucinous pancreatic cysts. *Surgery* 2017.

116. Zikos T, Pham K, Bowen R, et al. Cyst Fluid Glucose is Rapidly Feasible and Accurate in Diagnosing Mucinous Pancreatic Cysts. *The American journal of gastroenterology* 2015;110:909-14.
117. Park WG, Wu M, Bowen R, et al. Metabolomic-derived novel cyst fluid biomarkers for pancreatic cysts: glucose and kynurenine. *Gastrointestinal endoscopy* 2013;78:295-302.e2.
118. Khalid A, Zahid M, Finkelstein SD, et al. Pancreatic cyst fluid DNA analysis in evaluating pancreatic cysts: a report of the PANDA study. *Gastrointestinal endoscopy* 2009;69:1095-102.
119. Scheiman JM, Hwang JH, Moayyedi P. American gastroenterological association technical review on the diagnosis and management of asymptomatic neoplastic pancreatic cysts. *Gastroenterology* 2015;148:824-48.e22.
120. O'Toole D, Palazzo L, Hammel P, et al. Macrocytic pancreatic cystadenoma: The role of EUS and cyst fluid analysis in distinguishing mucinous and serous lesions. *Gastrointestinal endoscopy* 2004;59:823-9.
121. Raval JS, Zeh HJ, Moser AJ, et al. Pancreatic lymphoepithelial cysts express CEA and can contain mucous cells: potential pitfalls in the preoperative diagnosis. *Modern pathology : an official journal of the United States and Canadian Academy of Pathology, Inc* 2010;23:1467-76.
122. Nakai Y, Iwashita T, Shinoura S, et al. Role of serial EUS-guided FNA on pancreatic cystic neoplasms: a retrospective analysis of repeat carcinoembryonic antigen measurements. *Gastrointestinal endoscopy* 2016;84:780-4.
123. Winner M, Sethi A, Poneros JM, et al. The role of molecular analysis in the diagnosis and surveillance of pancreatic cystic neoplasms. *JOP : Journal of the pancreas* 2015;16:143-9.
124. Sand JA, Hyoty MK, Mattila J, Dagorn JC, Nordback IH. Clinical assessment compared with cyst fluid analysis in the differential diagnosis of cystic lesions in the pancreas. *Surgery* 1996;119:275-80.
125. Hammel P. Role of tumor markers in the diagnosis of cystic and intraductal neoplasms. *Gastrointestinal endoscopy clinics of North America* 2002;12:791-801.
126. Goh BK, Thng CH, Tan DM, et al. Evaluation of the Sendai and 2012 International Consensus Guidelines based on cross-sectional imaging findings performed for the initial triage of mucinous cystic lesions of the pancreas: a single institution experience with 114 surgically treated patients. *American journal of surgery* 2014;208:202-9.
127. Alles AJ, Warshaw AL, Southern JF, Compton CC, Lewandrowski KB. Expression of CA 72-4 (TAG-72) in the fluid contents of pancreatic cysts. A new marker to distinguish malignant pancreatic cystic tumors from benign neoplasms and pseudocysts. *Annals of surgery* 1994;219:131-4.
128. Springer S, Wang Y, Dal Molin M, et al. A combination of molecular markers and clinical features improve the classification of pancreatic cysts. *Gastroenterology* 2015;149:1501-10.
129. Wu J, Matthaei H, Maitra A, et al. Recurrent GNAS mutations define an unexpected pathway for pancreatic cyst development. *Science translational medicine* 2011;3:92ra66.
130. Al-Haddad MA, Kowalski T, Siddiqui A, et al. Integrated molecular pathology accurately determines the malignant potential of pancreatic cysts. *Endoscopy* 2015;47:136-42.

131. Lee LS, Doyle LA, Houghton J, et al. Differential expression of GNAS and KRAS mutations in pancreatic cysts. *JOP : Journal of the pancreas* 2014;15:581-6.
132. Charlesworth M, Verbeke CS, Falk GA, Walsh M, Smith AM, Morris-Stiff G. Pancreatic lesions in von Hippel-Lindau disease? A systematic review and meta-synthesis of the literature. *Journal of gastrointestinal surgery : official journal of the Society for Surgery of the Alimentary Tract* 2012;16:1422-8.
133. Al-Haddad M, DeWitt J, Sherman S, et al. Performance characteristics of molecular (DNA) analysis for the diagnosis of mucinous pancreatic cysts. *Gastrointestinal endoscopy* 2014;79:79-87.
134. Amato E, Molin MD, Mafficini A, et al. Targeted next-generation sequencing of cancer genes dissects the molecular profiles of intraductal papillary neoplasms of the pancreas. *The Journal of pathology* 2014;233:217-27.
135. Yu J, Sadakari Y, Shindo K, et al. Digital next-generation sequencing identifies low-abundance mutations in pancreatic juice samples collected from the duodenum of patients with pancreatic cancer and intraductal papillary mucinous neoplasms. *Gut* 2017;66:1677-87.
136. Gao Y, Zhu Y, Yuan Z. Circulating Tumor Cells and Circulating Tumor DNA Provide New Insights into Pancreatic Cancer. *International journal of medical sciences* 2016;13:902-13.
137. Rockacy MJ, Zahid M, McGrath KM, Fasanella KE, Khalid A. Association between KRAS mutation, detected in pancreatic cyst fluid, and long-term outcomes of patients. *Clinical gastroenterology and hepatology : the official clinical practice journal of the American Gastroenterological Association* 2013;11:425-9.
138. Lee LS, Wu BU, Banks PA, et al. Utility of commercial DNA analysis in detecting malignancy within pancreatic cysts. *JOP : Journal of the pancreas* 2014;15:182-8.
139. Nikiforova MN, Khalid A, Fasanella KE, et al. Integration of KRAS testing in the diagnosis of pancreatic cystic lesions: a clinical experience of 618 pancreatic cysts. *Modern pathology : an official journal of the United States and Canadian Academy of Pathology, Inc* 2013;26:1478-87.
140. Wu J, Jiao Y, Dal Molin M, et al. Whole-exome sequencing of neoplastic cysts of the pancreas reveals recurrent mutations in components of ubiquitin-dependent pathways. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 2011;108:21188-93.
141. Gleeson FC, Levy MJ. The evolving field of genomic biomarkers to characterize pancreatic cystic neoplasia by EUS-guided FNA. *Gastrointestinal endoscopy* 2016;83:149-50.
142. Murphy SJ, Hart SN, Lima JF, et al. Genetic alterations associated with progression from pancreatic intraepithelial neoplasia to invasive pancreatic tumor. *Gastroenterology* 2013;145:1098-109.e1.
143. Kanda M, Sadakari Y, Borges M, et al. Mutant TP53 in duodenal samples of pancreatic juice from patients with pancreatic cancer or high-grade dysplasia. *Clinical gastroenterology and hepatology : the official clinical practice journal of the American Gastroenterological Association* 2013;11:719-30.e5.
144. Garcia-Carracedo D, Turk AT, Fine SA, et al. Loss of PTEN expression is associated with poor prognosis in patients with intraductal papillary mucinous neoplasms of the pancreas. *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research* 2013;19:6830-41.

145. Wood LD, Hruban RH. Genomic landscapes of pancreatic neoplasia. *Journal of pathology and translational medicine* 2015;49:13-22.
146. Carrara S, Cangi MG, Arcidiacono PG, et al. Mucin expression pattern in pancreatic diseases: findings from EUS-guided fine-needle aspiration biopsies. *The American journal of gastroenterology* 2011;106:1359-63.
147. Wang KX, Ben QW, Jin ZD, et al. Assessment of morbidity and mortality associated with EUS-guided FNA: a systematic review. *Gastrointestinal endoscopy* 2011;73:283-90.
148. O'Toole D, Palazzo L, Arotçarena R, et al. Assessment of complications of EUS-guided fine-needle aspiration. *Gastrointestinal endoscopy*;53:470-4.
149. Fernández-Esparrach G BJ, Ginès A. Ultrasonografía endoscópica en el estudio del páncreas. *Med Clin (Barc)* 2002;118(17):665-70.
150. Guarner-Argente C, Shah P, Buchner A, Ahmad NA, Kochman ML, Ginsberg GG. Use of antimicrobials for EUS-guided FNA of pancreatic cysts: a retrospective, comparative analysis. *Gastrointestinal endoscopy* 2011;74:81-6.
151. Khashab MA, Chithadi KV, Acosta RD, et al. Antibiotic prophylaxis for GI endoscopy. *Gastrointestinal endoscopy* 2015;81:81-9.
152. Jacobson BC, Baron TH, Adler DG, et al. ASGE guideline: The role of endoscopy in the diagnosis and the management of cystic lesions and inflammatory fluid collections of the pancreas. *Gastrointestinal endoscopy* 2005;61:363-70.
153. Paul N. The U.S. Food and Drug Administration announcement suggests the need to revisit guidelines for antibiotic use after EUS-FNA. *Gastrointestinal endoscopy* 2016;84:877-8.
154. Marinos E, Lee S, Jones B, Corte C, Kwok A, Leong RW. Outcomes of single-dose peri-procedural antibiotic prophylaxis for endoscopic ultrasound-guided fine-needle aspiration of pancreatic cystic lesions. *United European gastroenterology journal* 2014;2:391-6.
155. Lee LS, Saltzman JR, Bounds BC, Poneros JM, Brugge WR, Thompson CC. EUS-guided fine needle aspiration of pancreatic cysts: a retrospective analysis of complications and their predictors. *Clinical gastroenterology and hepatology : the official clinical practice journal of the American Gastroenterological Association* 2005;3:231-6.
156. Varadarajulu S, Eloubeidi MA. The role of endoscopic ultrasonography in the evaluation of pancreatico-biliary cancer. *The Surgical clinics of North America* 2010;90:251-63.
157. Kien-Fong Vu C, Chang F, Doig L, Meenan J. A prospective control study of the safety and cellular yield of EUS-guided FNA or Trucut biopsy in patients taking aspirin, nonsteroidal anti-inflammatory drugs, or prophylactic low molecular weight heparin. *Gastrointestinal endoscopy* 2006;63:808-13.
158. Acosta RD, Abraham NS, Chandrasekhara V, et al. The management of antithrombotic agents for patients undergoing GI endoscopy. *Gastrointestinal endoscopy* 2016;83:3-16.
159. Ripollés T, Puig J. Actualización del uso de contrastes en ecografía. Revisión de las guías clínicas de la Federación Europea de Ecografía (EFSUMB). *Radiología* 2016;58:362-75.
160. Seicean A, Badea R, Stan-Iuga R, Gulei I, Pop T, Pascu O. The added value of real-time harmonics contrast-enhanced endoscopic ultrasonography for the characterisation of pancreatic diseases in routine practice. *Journal of gastrointestinal and liver diseases : JGLD* 2010;19:99-104.

161. Claudon M, Cosgrove D, Albrecht T, et al. Guidelines and good clinical practice recommendations for contrast enhanced ultrasound (CEUS) - update 2008. *Ultraschall in der Medizin* (Stuttgart, Germany : 1980) 2008;29:28-44.
162. Ignee A, Atkinson NSS, Schuessler G, Dietrich CF. Ultrasound contrast agents. *Endoscopic ultrasound* 2016;5:355-62.
163. Piscaglia F, Bolondi L. The safety of Sonovue in abdominal applications: retrospective analysis of 23188 investigations. *Ultrasound in medicine & biology* 2006;32:1369-75.
164. Bokor D, Chambers JB, Rees PJ, Mant TG, Luzzani F, Spinazzi A. Clinical safety of SonoVue, a new contrast agent for ultrasound imaging, in healthy volunteers and in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Investigative radiology* 2001;36:104-9.
165. Ripollés T, Puig J. Actualización del uso de contrastes en ecografía. Revisión de las guías clínicas de la Federación Europea de Ecografía (EFSUMB). *Radiología* 2009;51:362-75.
166. Kitano M, Kudo M, Yamao K, et al. Characterization of small solid tumors in the pancreas: the value of contrast-enhanced harmonic endoscopic ultrasonography. *The American journal of gastroenterology* 2012;107:303-10.
167. Piscaglia F, Nolsoe C, Dietrich CF, et al. The EFSUMB Guidelines and Recommendations on the Clinical Practice of Contrast Enhanced Ultrasound (CEUS): update 2011 on non-hepatic applications. *Ultraschall in der Medizin* (Stuttgart, Germany : 1980) 2012;33:33-59.
168. Sakamoto H, Kitano M, Suetomi Y, Maekawa K, Takeyama Y, Kudo M. Utility of contrast-enhanced endoscopic ultrasonography for diagnosis of small pancreatic carcinomas. *Ultrasound in medicine & biology* 2008;34:525-32.
169. Hocke M, Schulze E, Gottschalk P, Topalidis T, Dietrich CF. Contrast-enhanced endoscopic ultrasound in discrimination between focal pancreatitis and pancreatic cancer. *World journal of gastroenterology* 2006;12:246-50.
170. Fusaroli P, Spada A, Mancino MG, Caletti G. Contrast harmonic echo-endoscopic ultrasound improves accuracy in diagnosis of solid pancreatic masses. *Clinical gastroenterology and hepatology : the official clinical practice journal of the American Gastroenterological Association* 2010;8:629-34.e1-2.
171. Gong TT, Hu DM, Zhu Q. Contrast-enhanced EUS for differential diagnosis of pancreatic mass lesions: a meta-analysis. *Gastrointestinal endoscopy* 2012;76:301-9.
172. Napoleon B, Alvarez-Sanchez MV, Gincoul R, et al. Contrast-enhanced harmonic endoscopic ultrasound in solid lesions of the pancreas: results of a pilot study. *Endoscopy* 2010;42:564-70.
173. Serrani M, Lisotti A, Caletti G, Fusaroli P. Role of contrast harmonic-endoscopic ultrasound in pancreatic cystic lesions. *Endoscopic ultrasound* 2017;6:25-30.
174. Zhong N, Zhang L, Takahashi N, et al. Histologic and imaging features of mural nodules in mucinous pancreatic cysts. *Clinical gastroenterology and hepatology : the official clinical practice journal of the American Gastroenterological Association* 2012;10:192-8, 8.e1-2.
175. M. KMTTSHDKKTNKYKK. Dynamic imaging by contrast enhanced harmonic EUS with long-lasting contrast: Role in diagnosis of pancreatic tumors. *Gastrointestinal endoscopy* 2009:69.

176. Yamashita Y, Ueda K, Itonaga M, et al. Usefulness of contrast-enhanced endoscopic sonography for discriminating mural nodules from mucous clots in intraductal papillary mucinous neoplasms: a single-center prospective study. *Journal of ultrasound in medicine : official journal of the American Institute of Ultrasound in Medicine* 2013;32:61-8.
177. Imazu H, Uchiyama Y, Matsunaga K, et al. Contrast-enhanced harmonic EUS with novel ultrasonographic contrast (Sonazoid) in the preoperative T-staging for pancreaticobiliary malignancies. *Scandinavian journal of gastroenterology* 2010;45:732-8.
178. Kim DC, Moon JH, Choi HJ, et al. Usefulness of intraductal ultrasonography in icteric patients with highly suspected choledocholithiasis showing normal endoscopic retrograde cholangiopancreatography. *Digestive diseases and sciences* 2014;59:1902-8.
179. Tringali A, Lemmers A, Meves V, et al. Intraductal biliopancreatic imaging: European Society of Gastrointestinal Endoscopy (ESGE) technology review. *Endoscopy* 2015;47:739-53.
180. Vazquez-Sequeiros E, Baron TH, Clain JE, et al. Evaluation of indeterminate bile duct strictures by intraductal US. *Gastrointestinal endoscopy* 2002;56:372-9.
181. Menzel J, Poremba C, Dietl KH, Domschke W. Preoperative diagnosis of bile duct strictures--comparison of intraductal ultrasonography with conventional endosonography. *Scandinavian journal of gastroenterology* 2000;35:77-82.
182. Menzel J, Domschke W. Intraductal ultrasonography (IDUS) of the pancreato-biliary duct system. Personal experience and review of literature. *European journal of ultrasound : official journal of the European Federation of Societies for Ultrasound in Medicine and Biology* 1999;10:105-15.
183. Furukawa T, Oohashi K, Yamao K, et al. Intraductal ultrasonography of the pancreas: development and clinical potential. *Endoscopy* 1997;29:561-9.
184. Hara T, Yamaguchi T, Ishihara T, et al. Diagnosis and patient management of intraductal papillary-mucinous tumor of the pancreas by using peroral pancreatoscopy and intraductal ultrasonography. *Gastroenterology* 2002;122:34-43.
185. Nguyen NQ, Binmoeller KF, Shah JN. Cholangioscopy and pancreatoscopy (with videos). *Gastrointestinal endoscopy* 2009;70:1200-10.
186. Shah RJ, Adler DG, Conway JD, et al. Cholangiopancreatography. *Gastrointestinal endoscopy* 2008;68:411-21.
187. Ringold DA, Shah RJ. Peroral pancreatoscopy in the diagnosis and management of intraductal papillary mucinous neoplasia and indeterminate pancreatic duct pathology. *Gastrointestinal endoscopy clinics of North America* 2009;19:601-13.
188. Yasuda K, Sakata M, Ueda M, Uno K, Nakajima M. The Use of Pancreatoscopy in the Diagnosis of Intraductal Papillary Mucinous Tumor Lesions of the Pancreas. *Clinical Gastroenterology and Hepatology* 2005;3:S53-S7.
189. Azar C, Van de Stadt J, Rickaert F, et al. Intraductal papillary mucinous tumours of the pancreas. Clinical and therapeutic issues in 32 patients. *Gut* 1996;39:457-64.
190. Kitagawa Y, Unger TA, Taylor S, Kozarek RA, Traverso LW. Mucus is a predictor of better prognosis and survival in patients with intraductal papillary mucinous tumor of the pancreas. *Journal of gastrointestinal surgery : official journal of the Society for Surgery of the Alimentary Tract* 2003;7:12-8; discussion 8-9.
191. Telford JJ, Carr-Locke DL. The role of ERCP and pancreatoscopy in cystic and intraductal tumors. *Gastrointestinal endoscopy clinics of North America* 2002;12:747-57.

192. Sey MS, Teagarden S, Settles D, et al. Prospective Cross-Sectional Study of the Prevalence of Incidental Pancreatic Cysts During Routine Outpatient Endoscopic Ultrasound. *Pancreas* 2015;44:1130-3.
193. Zerboni G, Signoretti M, Crippa S, Falconi M, Arcidiacono PG, Capurso G. Systematic review and meta-analysis: Prevalence of incidentally detected pancreatic cystic lesions in asymptomatic individuals. *Pancreatology : official journal of the International Association of Pancreatology (IAP)* [et al] 2019;19:2-9.
194. Ferrone CR, Correa-Gallego C, Warshaw AL, et al. Current Trends in Pancreatic Cystic Neoplasms. *Archives of surgery (Chicago, Ill : 1960)* 2009;144:448-54.
195. Del Chiaro M, Verbeke C, Salvia R, et al. European experts consensus statement on cystic tumours of the pancreas. *Digestive and liver disease : official journal of the Italian Society of Gastroenterology and the Italian Association for the Study of the Liver* 2013;45:703-11.
196. Kimura W, Nagai H, Kuroda A, Muto T, Esaki Y. Analysis of small cystic lesions of the pancreas. *International journal of pancreatology : official journal of the International Association of Pancreatology* 1995;18:197-206.
197. Rahib L, Smith BD, Aizenberg R, Rosenzweig AB, Fleshman JM, Matrisian LM. Projecting cancer incidence and deaths to 2030: the unexpected burden of thyroid, liver, and pancreas cancers in the United States. *Cancer research* 2014;74:2913-21.
198. Patra KC, Bardeesy N, Mizukami Y. Diversity of Precursor Lesions For Pancreatic Cancer: The Genetics and Biology of Intraductal Papillary Mucinous Neoplasm. *Clin Transl Gastroenterol* 2017;8:e86.
199. Omori Y, Ono Y, Tanino M, et al. Pathways of Progression From Intraductal Papillary Mucinous Neoplasm to Pancreatic Ductal Adenocarcinoma Based on Molecular Features. *Gastroenterology* 2019;156:647-61 e2.
200. Peters MLB, Eckel A, Mueller PP, et al. Progression to pancreatic ductal adenocarcinoma from pancreatic intraepithelial neoplasia: Results of a simulation model. *Pancreatology : official journal of the International Association of Pancreatology (IAP)* [et al] 2018;18:928-34.
201. Overbeek KA, Cahen DL, Canto MI, Bruno MJ. Surveillance for neoplasia in the pancreas. *Best practice & research Clinical gastroenterology* 2016;30:971-86.
202. Baiocchi GL, Portolani N, Missale G, et al. Intraductal papillary mucinous neoplasm of the pancreas (IPMN): clinico-pathological correlations and surgical indications. *World Journal of Surgical Oncology* 2010;8:25.
203. Castillo CF. Intraductal papillary mucinous neoplasms of the pancreas: a plea for prospective differentiation between main-duct and side-branch tumors. *Annals of surgical oncology* 2005;12:98-9.
204. Sugimoto M, Elliott IA, Nguyen AH, et al. Assessment of a Revised Management Strategy for Patients With Intraductal Papillary Mucinous Neoplasms Involving the Main Pancreatic Duct. *JAMA surgery* 2017;152:e163349.
205. Farrell JJ. Prevalence, Diagnosis and Management of Pancreatic Cystic Neoplasms: Current Status and Future Directions. *Gut and liver* 2015;9:571-89.
206. Stark A, Donahue TR, Reber HA, Hines OJ. Pancreatic Cyst Disease: A Review. *Jama* 2016;315:1882-93.
207. Chernyak V, Flusberg M, Haramati LB, Rozenblit AM, Bellin E. Incidental pancreatic cystic lesions: is there a relationship with the development of pancreatic adenocarcinoma and all-cause mortality? *Radiology* 2015;274:161-9.

208. Mukewar SS, Sharma A, Phillip N, et al. Risk of Pancreatic Cancer in Patients with Pancreatic Cysts and Family History of Pancreatic Cancer. *Clinical gastroenterology and hepatology : the official clinical practice journal of the American Gastroenterological Association* 2018.
209. Klein AP, Brune KA, Petersen GM, et al. Prospective risk of pancreatic cancer in familial pancreatic cancer kindreds. *Cancer research* 2004;64:2634-8.
210. Nehra D, Oyarvide VM, Mino-Kenudson M, et al. Intraductal papillary mucinous neoplasms: does a family history of pancreatic cancer matter? *Pancreatology : official journal of the International Association of Pancreatology (IAP)* [et al] 2012;12:358-63.
211. Poley JW, Kluijdt I, Gouma DJ, et al. The yield of first-time endoscopic ultrasonography in screening individuals at a high risk of developing pancreatic cancer. *The American journal of gastroenterology* 2009;104:2175-81.
212. Chung JW, Chung MJ, Park JY, et al. Clinicopathologic features and outcomes of pancreatic cysts during a 12-year period. *Pancreas* 2013;42:230-8.
213. Fernandez-del Castillo C, Targarona J, Thayer SP, Rattner DW, Brugge WR, Warshaw AL. Incidental pancreatic cysts: clinicopathologic characteristics and comparison with symptomatic patients. *Archives of surgery (Chicago, Ill : 1960)* 2003;138:427-3; discussion 33-4.
214. Ohtsuka T, Kono H, Tanabe R, et al. Follow-up study after resection of intraductal papillary mucinous neoplasm of the pancreas; special references to the multifocal lesions and development of ductal carcinoma in the remnant pancreas. *American journal of surgery* 2012;204:44-8.
215. Miyasaka Y, Ohtsuka T, Tamura K, et al. Predictive Factors for the Metachronous Development of High-risk Lesions in the Remnant Pancreas After Partial Pancreatectomy for Intraductal Papillary Mucinous Neoplasm. *Annals of surgery* 2016;263:1180-7.
216. Marchegiani G, Mino-Kenudson M, Ferrone CR, et al. Patterns of Recurrence After Resection of IPMN: Who, When, and How? *Annals of surgery* 2015;262:1108-14.
217. Kaimakliotis P, Riff B, Pourmand K, et al. Sendai and Fukuoka Consensus Guidelines Identify Advanced Neoplasia in Patients With Suspected Mucinous Cystic Neoplasms of the Pancreas. *Clinical gastroenterology and hepatology : the official clinical practice journal of the American Gastroenterological Association* 2015;13:1808-15.
218. Ngamruengphong S, Xu C, Woodward TA, et al. Risk of gastric or peritoneal recurrence, and long-term outcomes, following pancreatic cancer resection with preoperative endosonographically guided fine needle aspiration. *Endoscopy* 2013;45:619-26.
219. Hirono S, Tani M, Kawai M, et al. The carcinoembryonic antigen level in pancreatic juice and mural nodule size are predictors of malignancy for branch duct type intraductal papillary mucinous neoplasms of the pancreas. *Annals of surgery* 2012;255:517-22.
220. Shimizu Y, Yamaue H, Maguchi H, et al. Predictors of malignancy in intraductal papillary mucinous neoplasm of the pancreas: analysis of 310 pancreatic resection patients at multiple high-volume centers. *Pancreas* 2013;42:883-8.
221. Hackert T, Fritz S, Klaus M, et al. Main-duct Intraductal Papillary Mucinous Neoplasm: High Cancer Risk in Duct Diameter of 5 to 9 mm. *Annals of surgery* 2015;262:875-80; discussion 80-1.
222. Lennon AM, Ahuja N, Wolfgang CL. AGA Guidelines for the Management of Pancreatic Cysts. *Gastroenterology* 2015;149:825.

223. Basar O, Brugge WR. Which guidelines should be used for branch-duct intraductal papillary mucinous neoplasms? *Gastrointestinal endoscopy* 2016;84:446-9.
224. Ridditid W, DeWitt JM, Schmidt CM, et al. Management of branch-duct intraductal papillary mucinous neoplasms: a large single-center study to assess predictors of malignancy and long-term outcomes. *Gastrointestinal endoscopy* 2016;84:436-45.
225. Wong J, Weber J, Centeno BA, et al. High-grade dysplasia and adenocarcinoma are frequent in side-branch intraductal papillary mucinous neoplasm measuring less than 3 cm on endoscopic ultrasound. *Journal of gastrointestinal surgery : official journal of the Society for Surgery of the Alimentary Tract* 2013;17:78-84; discussion p.-5.
226. Robles EP, Maire F, Cros J, et al. Accuracy of 2012 International Consensus Guidelines for the prediction of malignancy of branch-duct intraductal papillary mucinous neoplasms of the pancreas. *United European gastroenterology journal* 2016;4:580-6.
227. Lisotti A, Fusaroli P. Factors influencing surgical indication in patients with asymptomatic pancreatic cystic lesion - is EUS always indicated before surgery? *Pancreatology : official journal of the International Association of Pancreatology (IAP)* [et al] 2019;19:206-7.
228. Lombardo C, Iacopi S, Menonna F, et al. Incidence and reasons of pancreatic resection in patients with asymptomatic serous cystadenoma. *Pancreatology : official journal of the International Association of Pancreatology (IAP)* [et al] 2018.
229. Springer S, Masica DL, Dal Molin M, et al. A multimodality test to guide the management of patients with a pancreatic cyst. *Science translational medicine* 2019;11.
230. Guerrero García A, González-Huix F, Levy MJ, García de Paredes AG, Vázquez-Sequeiros E. Tratamiento ablativo de lesiones quísticas pancreáticas. *Gastroenterología y Hepatología* 2019;42:43-50.
231. Arshad HM, Bharmal S, Duman DG, Liangpunsakul S, Turner BG. Advanced endoscopic ultrasound management techniques for preneoplastic pancreatic cystic lesions. *J Investig Med* 2017;65:7-14.
232. DeWitt JM, Al-Haddad M, Sherman S, et al. Alterations in cyst fluid genetics following endoscopic ultrasound-guided pancreatic cyst ablation with ethanol and paclitaxel. *Endoscopy* 2014;46:457-64.
233. Moyer MT, Sharzei S, Mathew A, et al. The Safety and Efficacy of an Alcohol-Free Pancreatic Cyst Ablation Protocol. *Gastroenterology* 2017;153:1295-303.
234. Álvarez LM, JC.; Hoyos, SI. Neoplasias quísticas del páncreas. *Rev Colomb Cir* 2012;27:63-78.
235. Cooper CL, O'Toole SA, Kench JG. Classification, morphology and molecular pathology of premalignant lesions of the pancreas. *Pathology* 2013;45:286-304.
236. Nasr J, Sanders M, Fasanella K, Khalid A, McGrath K. Lymphoepithelial cysts of the pancreas: an EUS case series. *Gastrointestinal endoscopy* 2008;68:170-3.
237. Bhosale P, Balachandran A, Tamm E. Imaging of benign and malignant cystic pancreatic lesions and a strategy for follow up. *World journal of radiology* 2010;2:345-53.
238. Barresi L, Tarantino I, Granata A, Curcio G, Traina M. Pancreatic cystic lesions: How endoscopic ultrasound morphology and endoscopic ultrasound fine needle aspiration help unlock the diagnostic puzzle. *World Journal of Gastrointestinal Endoscopy* 2012;4:247-59.
239. Al-Haddad M, El H, II, Eloubeidi MA. Endoscopic ultrasound for the evaluation of cystic lesions of the pancreas. *JOP : Journal of the pancreas* 2010;11:299-309.

240. Gardner TB, Levy MJ. EUS diagnosis of chronic pancreatitis. *Gastrointestinal endoscopy* 2010;71:1280-9.
241. King JC, Ng TT, White SC, Cortina G, Reber HA, Hines OJ. Pancreatic serous cystadenocarcinoma: a case report and review of the literature. *Journal of gastrointestinal surgery : official journal of the Society for Surgery of the Alimentary Tract* 2009;13:1864-8.
242. Hayashi K, Fujimitsu R, Ida M, et al. CT differentiation of solid serous cystadenoma vs endocrine tumor of the pancreas. *European journal of radiology* 2012;81:e203-8.
243. Petrone MC, Arcidiacono PG. Role of endoscopic ultrasound in the diagnosis of cystic tumours of the pancreas. *Digestive and liver disease : official journal of the Italian Society of Gastroenterology and the Italian Association for the Study of the Liver* 2008;40:847-53.
244. Ketwaroo GA, Morteale KJ, Sawhney MS. Pancreatic Cystic Neoplasms: An Update. *Gastroenterology clinics of North America* 2016;45:67-81.
245. Salom F, Piedra W, Burgos H. Tumor growth rate of pancreatic serous cystadenomas: Endosonographic follow-up with volume measurement to predict cyst enlargement. *Pancreatology : official journal of the International Association of Pancreatology (IAP) [et al]* 2019;19:122-6.
246. Keane MG, Shamali A, Nilsson LN, et al. Risk of malignancy in resected pancreatic mucinous cystic neoplasms. *Br J Surg* 2018;105:439-46.
247. Crippa S, Salvia R, Warshaw AL, et al. Mucinous cystic neoplasm of the pancreas is not an aggressive entity: lessons from 163 resected patients. *Annals of surgery* 2008;247:571-9.
248. Valsangkar NP, Morales-Oyarvide V, Thayer SP, et al. 851 resected cystic tumors of the pancreas: a 33-year experience at the Massachusetts General Hospital. *Surgery* 2012;152:S4-12.
249. Le Baleur Y, Couvelard A, Vullierme MP, et al. Mucinous cystic neoplasms of the pancreas: definition of preoperative imaging criteria for high-risk lesions. *Pancreatology : official journal of the International Association of Pancreatology (IAP) [et al]* 2011;11:495-9.
250. Hutchins GF, Draganov PV. Cystic neoplasms of the pancreas: a diagnostic challenge. *World journal of gastroenterology* 2009;15:48-54.
251. Kang CM, Matsushita A, Hwang HK, et al. Experience-based surgical approach to pancreatic mucinous cystic neoplasms with ovarian-type stroma. *Oncology letters* 2018;15:2451-8.
252. Oh HC, Seo DW, Song TJ, et al. Endoscopic ultrasonography-guided ethanol lavage with paclitaxel injection treats patients with pancreatic cysts. *Gastroenterology* 2011;140:172-9.
253. DeWitt J, McGreevy K, Schmidt CM, Brugge WR. EUS-guided ethanol versus saline solution lavage for pancreatic cysts: a randomized, double-blind study. *Gastrointestinal endoscopy* 2009;70:710-23.
254. Grutzmann R, Post S, Saeger HD, Niedergethmann M. Intraductal papillary mucinous neoplasia (IPMN) of the pancreas: its diagnosis, treatment, and prognosis. *Deutsches Arzteblatt international* 2011;108:788-94.
255. Maguchi H, Tanno S, Mizuno N, et al. Natural history of branch duct intraductal papillary mucinous neoplasms of the pancreas: a multicenter study in Japan. *Pancreas* 2011;40:364-70.

256. Poultides GA, Reddy S, Cameron JL, et al. Histopathologic basis for the favorable survival after resection of intraductal papillary mucinous neoplasm-associated invasive adenocarcinoma of the pancreas. *Annals of surgery* 2010;251:470-6.
257. Winter JM, Jiang W, Basturk O, et al. Recurrence and survival following resection of small IPMN-associated carcinomas (≤ 20 mm invasive component): A multi-institutional analysis. *Annals of surgery* 2017;263:793-801.
258. Yabusaki N, Yamada S, Shimoyama Y, et al. A vascular endothelial growth factor gene polymorphism predicts malignant potential in intraductal papillary mucinous neoplasm. *Pancreas* 2015;44:608-14.
259. Mino-Kenudson M, Fernandez-del Castillo C, Baba Y, et al. Prognosis of invasive intraductal papillary mucinous neoplasm depends on histological and precursor epithelial subtypes. *Gut* 2011;60:1712-20.
260. Fernandez-del Castillo C, Adsay NV. Intraductal papillary mucinous neoplasms of the pancreas. *Gastroenterology* 2010;139:708-13, 13.e1-2.
261. Hruban RH, Adsay NV, Albores-Saavedra J, et al. Pancreatic intraepithelial neoplasia: a new nomenclature and classification system for pancreatic duct lesions. *The American journal of surgical pathology* 2001;25:579-86.
262. Crippa S, Fernandez-Del Castillo C, Salvia R, et al. Mucin-producing neoplasms of the pancreas: an analysis of distinguishing clinical and epidemiologic characteristics. *Clinical gastroenterology and hepatology : the official clinical practice journal of the American Gastroenterological Association* 2010;8:213-9.
263. Furukawa T, Kloppel G, Volkan Adsay N, et al. Classification of types of intraductal papillary-mucinous neoplasm of the pancreas: a consensus study. *Virchows Archiv : an international journal of pathology* 2005;447:794-9.
264. Kim KW, Park SH, Pyo J, et al. Imaging features to distinguish malignant and benign branch-duct type intraductal papillary mucinous neoplasms of the pancreas: a meta-analysis. *Annals of surgery* 2014;259:72-81.
265. Vassos N, Agaimy A, Klein P, Hohenberger W, Croner RS. Solid-pseudopapillary neoplasm (SPN) of the pancreas: case series and literature review on an enigmatic entity. *International journal of clinical and experimental pathology* 2013;6:1051-9.
266. Butte JM, Brennan MF, Gonen M, et al. Solid pseudopapillary tumors of the pancreas. Clinical features, surgical outcomes, and long-term survival in 45 consecutive patients from a single center. *Journal of gastrointestinal surgery : official journal of the Society for Surgery of the Alimentary Tract* 2011;15:350-7.
267. Papavramidis T, Papavramidis S. Solid pseudopapillary tumors of the pancreas: review of 718 patients reported in English literature. *Journal of the American College of Surgeons* 2005;200:965-72.
268. Reddy S, Cameron JL, Scudiere J, et al. Surgical management of solid-pseudopapillary neoplasms of the pancreas (Franz or Hamoudi tumors): a large single-institutional series. *Journal of the American College of Surgeons* 2009;208:950-7; discussion 7-9.
269. Huang YS, Chen JL, Chang CC, Liu KL. Solid Pseudopapillary Neoplasms of the Pancreas: Imaging Differentiation between Benignity and Malignancy. *Hepato-gastroenterology* 2014;61:809-13.
270. Freda F, Procaccini E, Ruggiero R, et al. Solid-cystic pseudopapillary tumor of pancreas: description of two cases and literature review. *Tumori* 2007;93:522-5.

271. Serrano PE, Serra S, Al-Ali H, et al. Risk factors associated with recurrence in patients with solid pseudopapillary tumors of the pancreas. *JOP : Journal of the pancreas* 2014;15:561-8.
272. Goh BK, Ooi LL, Tan YM, et al. Clinico-pathological features of cystic pancreatic endocrine neoplasms and a comparison with their solid counterparts. *European journal of surgical oncology : the journal of the European Society of Surgical Oncology and the British Association of Surgical Oncology* 2006;32:553-6.
273. Singhi AD, Chu LC, Tatsas AD, et al. Cystic pancreatic neuroendocrine tumors: a clinicopathologic study. *The American journal of surgical pathology* 2012;36:1666-73.
274. Ho HC, Eloubeidi MA, Siddiqui UD, et al. Endosonographic and cyst fluid characteristics of cystic pancreatic neuroendocrine tumours: a multicentre case series. *Digestive and liver disease : official journal of the Italian Society of Gastroenterology and the Italian Association for the Study of the Liver* 2013;45:750-3.
275. Koh YX, Chok AY, Zheng HL, Tan CS, Goh BK. A systematic review and meta-analysis of the clinicopathologic characteristics of cystic versus solid pancreatic neuroendocrine neoplasms. *Surgery* 2014;156:83-96 e2.
276. Falconi M, Eriksson B, Kaltsas G, et al. ENETS Consensus Guidelines Update for the Management of Patients with Functional Pancreatic Neuroendocrine Tumors and Non-Functional Pancreatic Neuroendocrine Tumors. *Neuroendocrinology* 2016;103:153-71.
277. Horwhat JD, Paulson EK, McGrath K, et al. A randomized comparison of EUS-guided FNA versus CT or US-guided FNA for the evaluation of pancreatic mass lesions. *Gastrointestinal endoscopy* 2006;63:966-75.
278. Singhi AD, Nikiforova MN, Fasanella KE, et al. Preoperative GNAS and KRAS testing in the diagnosis of pancreatic mucinous cysts. *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research* 2014;20:4381-9.
279. Rodriguez-de-Santiago E, Frazzoni L, Fuccio L, et al. Digestive findings that do not require endoscopic surveillance - Reducing the burden of care: European Society of Gastrointestinal Endoscopy (ESGE) Position Statement. *Endoscopy* 2020.
280. McGuigan A, Kelly P, Turkington RC, Jones C, Coleman HG, McCain RS. Pancreatic cancer: A review of clinical diagnosis, epidemiology, treatment and outcomes. *World journal of gastroenterology* 2018;24:4846-61.